

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Zoologie



**Bc. Lucie Pešková**

**Vliv vnějších podmínek na inkubaci vajec u čejek rodu *Vanellus* v temperátním a subtropickém klimatu**

Influence of external conditions on egg incubation in lapwings (genus *Vanellus*) in temperate and subtropical climate

Diplomová práce

Vedoucí práce: prof. Mgr. Miroslav Šálek, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Radek Lučan, Ph.D.

Praha, 2020



## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 8. 6. 2020

Podpis

## **Poděkování**

Ráda bych na tomto místě poděkovala svému školiteli Miroslavu Šálkovi, za vedení, motivaci, podnětné návrhy, objektivní připomínky, maximální ochotu a téměř 24hodinovou dostupnost během sepisování této práce.

Za pomoc v terénu vděčím též svému školiteli a členům jeho výzkumnému týmu, bez kterých by sběr dat ani na jedné z lokalit nebyl možný. Za podnětné diskuse, věcné návrhy a nepostradatelnou technickou podporu děkuji Lubomíru Peškemu. Za pomoc s přípravou map děkuji Danielu Baťovi.

## Abstrakt

Během inkubace je u většiny ptáků nutná přítomnost alespoň jednoho rodiče, který zajišťuje vhodné inkubační podmínky pro vývoj embrya ve vejci. Mezi základní faktory, které ovlivňují vývoj embrya patří teplota, vlhkost a otáčení vejce. V této práci byly zkoumány podmínky inkubace u dvou biparentálních druhů rodu *Vanellus*, u čejky chocholaté (*Vanellus vanellus*) čelící v temperátních oblastech riziku podchlazení vajec a u čejky černoprse (*Vanellus indicus*) čelící v subtropích riziku přehřátí vajec. Laboratorní experiment, který testoval tepelné vlastnosti výstelky čejky černoprse, ukázal, že tento druh si do hnízdní výstelky vybírá materiál z okolí, který nejvíce zpomaluje růst teploty během zahřívání vajec, a zajišťuje tak vhodné termoregulační vlastnosti hnízda během nepřítomnosti rodičů při vysokých venkovních teplotách. Prostřednictvím instalace umělého vejce se zabudovaným dataloggerem do hnízd obou cílových druhů byla zjišťována teplota a manipulace s vejcem během inkubace. Průměrná teplota ve vejci dosahovala u čejky chocholaté 32,5 °C a u čejky černoprse 35,0 °C. Naměřené hodnoty u obou druhů výrazně kolísaly v závislosti na mnoha faktorech. Teplota ve vejci rostla s narůstající venkovní teplotou, měla rytmický průběh v rámci dne a byla prokazatelně vyšší ve dne oproti noci. U čejky chocholaté bylo prokázáno, že větší objem výstelky v hníždě způsobuje vyšší teplotu vejce v místě kontaktu s výstelkou. U čejky černoprse vliv složení výstelky na teplotu nebyl prokázán. Fáze inkubace neměla vliv na teplotu ve vejci u žádného z druhů. Otáčení vajec je též stěžejní faktor ovlivňující vývoj embrya, avšak v přírodě nebyl dosud příliš studován. Čejka chocholatá manipulovala s vejcem 1–2 x za hodinu, čejka černoprse méně než jednou za hodinu. U obou druhů byla manipulace s vejcem častější během dne ve srovnání s nocí. Frekvence otáčení ani úhel otočení při jedné manipulaci se nelišily během dne, ani v závislosti na vlastnostech výstelky či fázi inkubace. U čejky chocholaté bylo prokázáno, že s vejcem je častěji manipulováno při vyšších venkovních teplotách. U čejky černoprse se ukázalo, že při vyšších venkovních teplotách otáčí vejce o větší úhel během jedné manipulace. Výsledky této práce ukazují, že ačkoliv biparentální druhy své snůšce věnují velkou péči, embryo ve vejci je při inkubaci v přírodě vlivem venkovních podmínek vystaveno výraznému kolísání teplot. Zůstává otázkou, jak důležitý je tento fenomén pro vývoj embrya a zda jde jen o nezbytný fyzikální vztah při toku tepla nebo mají tyto výkyvy i určující vliv na jeho "kvalitu" například z hlediska přežívání mláďat po vylíhnutí.

Klíčová slova: ptáci; hnízdění; inkubace; termoregulace; adaptace; chování; bahňáci; hnízdní výstelka; otáčení vejce

## Abstract

During incubation, most birds require the presence of at least one parent to ensure suitable incubation conditions for embryo development. The main factors that affect the development of the embryo are temperature, humidity and egg turning. In this work, incubation conditions were investigated in two biparental Lapwing species (genus *Vanellus*), the Northern Lapwing (*Vanellus vanellus*), which faces the risk of egg cooling in temperate areas, and the Red-wattled Lapwing (*Vanellus indicus*), which faces the risk of egg overheating in the subtropics. A laboratory experiment testing the thermal properties of the Red-wattled Lapwing nest lining showed that it selects lining material that slows down temperature growth during egg heating, thus ensuring suitable thermal conditions during parental absence at high ambient temperatures. Temperature and egg turning during incubation were recorded by an artificial egg with a built-in sensors placed in the nests of both target species; data collected by the sensors were stored by a base-station located nearby. The average egg temperature was 32.5 °C for the Northern Lapwing, and 35.0 °C for the Red-wattled Lapwing. Egg temperature in both species fluctuated significantly, affected by many factors. Egg temperature increased with increasing ambient temperature, it had a diurnal rhythm during the day and was significantly higher during the day than at night. In the Northern Lapwing, a larger volume of nest lining causes the parts of the egg in contact with the lining to maintain a higher temperature. In Red-wattled Lapwing no effect of lining composition on egg temperature was found. The incubation phase did not affect the egg temperature in either of the species. The egg turning is also a key factor influencing the development of the embryo, but it has been little studied in nature. The Northern Lapwing manipulated the egg 1–2 times per hour, the Red-wattled Lapwing less than once in an hour. In both species, egg turning was more frequent during the day than at night. The frequency of rotation and the angle of rotation during manipulation did not differ during the day, nor were they affected by the properties of the nest lining. The Northern Lapwing turned eggs more often at higher ambient temperatures. Red-wattled Lapwing turned eggs through a greater angle when ambient temperatures were high. The results show that although biparental species pay great attention to their clutch, the embryo in the egg is exposed to enormous temperature fluctuations during incubation due to gaps in incubation by the parents and variation in outdoor conditions. The question is how important this phenomenon is for the development of the embryo and whether it is only a necessary physical relationship in the flow of heat or whether these fluctuations can affect things like embryo quality, hatching and survival of nestlings.

Key words: birds; breeding; incubation; thermoregulation; adaptation; behaviour; shorebirds; nest lining; egg turning

# OBSAH

1	ÚVOD .....	7
1.1	Teplota.....	7
1.1.1	Umístění hnízda.....	10
1.1.2	Stavba hnízda se zaměřením na výstelku hnízda.....	11
1.1.3	Velikost snůšky .....	13
1.1.4	Biparentální a uniparentální inkubace .....	13
1.1.5	Vliv venkovních podmínek .....	14
1.2	Otáčení.....	15
1.3	Humidita.....	16
1.4	Cílové druhy .....	17
1.4.1	Čejka chocholátá ( <i>Vanellus vanellus</i> ).....	18
1.4.2	Čejka černoprsá ( <i>Vanellus indicus</i> ).....	19
2	CÍLE PRÁCE .....	21
3	MATERIÁL A METODIKA .....	22
3.1	Vliv výstelky na teplotu vejce – laboratorní experiment.....	22
3.1.1	Sběr materiálu.....	22
3.1.2	Příprava experimentu.....	23
3.1.3	Průběh experimentu.....	24
3.1.4	Složení výstelky .....	25
3.2	Teplota a otáčení vejce v hníždě – terénní měření .....	25
3.2.1	Lokalita a cílové druhy.....	25
3.2.2	Měřicí vejce a základnová stanice .....	26
3.2.3	Měření venkovní teploty.....	26
3.2.4	Instalace vejce do hnízda.....	27
3.2.5	Hodnocení výstelky .....	28
3.2.6	Stanovení dne a noci.....	29
3.2.7	Den aktuálního nasezení.....	29
3.2.8	Osud snůšky – líhnivost.....	29
3.3	Zpracování dat.....	30
4	VÝSLEDKY .....	31
4.1	Vliv výstelky na teplotu vejce – laboratorní experiment.....	31
4.1.1.	Vliv substrátu na teplotu uvnitř vejce.....	31
4.1.2	Povrchová teplota vejce a substrátu.....	35
4.1.3	Srovnání všech naměřených teplot.....	38
4.2	Teplota vejce v hníždě – terénní měření.....	38

4.2.1	Průměrné teploty naměřené během inkubace .....	38
4.2.2	Teplota ve vejci u čejky chocholaté .....	39
4.2.3	Teplota ve vejci u čejky černoprsé .....	44
4.3	Otáčení vejce v hnízdě – terénní měření .....	48
4.3.1	Průměrné hodnoty otáčení naměřené během inkubace .....	48
4.3.2	Otáčení vejce u čejky chocholaté .....	49
4.3.3	Otáčení vejce u čejky černoprsé .....	51
4.4	Srovnání naměřených hodnot u obou druhů čejek .....	54
5	DISKUSE .....	56
5.1	Vliv výstelky u subtropického druhu .....	56
5.1.2	Vliv vlastností vejce na jeho teplotu.....	58
5.2	Teplota vejce během inkubace .....	60
5.2.1	Propojení poznatků z laboratorních experimentů a z přírody.....	64
5.3	Otáčení vejce během inkubace .....	65
5.4	Mezidruhová variabilita v teplotě a otáčení vejce .....	67
6	SHRNUTÍ A ZÁVĚR .....	69
7	POUŽITÁ LITERATURA.....	71
	PŘÍLOHY.....	79



# 1 ÚVOD

Inkubace je nedílnou součástí reprodukce ptáků. Jednotlivé aspekty inkubace jsou v současné době velmi intenzivně studovány (Deeming, 2002; Deeming and Reynolds, 2015). Pomineme-li tabony a hnízdní parazity, inkubují ptáci svá vejce vlastním tělem. Alespoň jeden rodič je tedy nucen investovat do inkubace velké množství energie téměř nepřetržitě během celého jejího průběhu. Reprodukce ptáků je kromě inkubace spojená též s náklady na samotou produkci vajec u samic a náklady na stavbu hnízda. Inkubace představuje pro rodiče trade-off mezi náklady a benefity péče o vejce. Rodiče musí zvolit vhodný poměr mezi investicí do inkubace a investicí do svého přežívání (Clayton and Cotgreave, 1994; Hanssen et al., 2005).

Existují tři základní proměnné, které ovlivňují vývoj embrya po celou dobu inkubace – teplota, vlhkost a otáčení vejce. Zanedbání některé z těchto proměnných vede k nesprávnému vývoji embrya a může zapříčinit prenatalní či postnatalní mortalitu (Barott, 1937; New, 1957). Nastavení těchto tří faktorů je stěžejní při přirozené i při umělé inkubaci. Nevhodné hodnoty těchto proměnných mohou mít negativní vliv na embryo i před počátkem inkubace během kompletace snůšky v přírodě (či při skladování vajec před inkubací v umělých líhních).

Inkubace a její náklady byly studovány u mnoha druhů hnízdících v severních oblastech (v tundře). Zde panují extrémní podmínky a denní výdej energie rodičů je zde při inkubaci o 50 % vyšší než v temperátních oblastech (Piersma et al., 2003). Velmi hojně jsou studovány též druhy v temperátním klimatu. V obou těchto oblastech jsou venkovní teploty převážnou většinu času pod inkubačním optimem a vejce tak čelí riziku podchlazení, jsou-li dlouhodobě neinkubována. Výrazně méně studií je zaměřeno na nákladnost inkubace u druhů z tropů a subtropů, kde mohou vejce čelit riziku přehřátí během vysokých denních teplot.

## 1.1 Teplota

K oplození vejce dochází ještě ve vejcovodu samice. Po snesení je vejce díky venkovní teplotě ochlazeno a vývoj embrya se zastavuje. V tomto stavu mohou vejce setrvat velmi dlouho při nízkých teplotách, aniž by došlo k poškození embrya. Toho je využíváno při uskládování vajec například pro komerční chovy či inkubační experimenty. Avšak s rostoucím počtem dnů „neinkubace“ u vajec postupně klesá líhivost (Arnold, 1993) a proto je vhodné udržovat teplotu pro uskladnění vajec ve vhodném rozmezí (Batt and Cornwell, 1972). Před začátkem inkubace je sice embryo velmi odolné, ale nemělo by být zahřáto na vyšší teplotu, než je tzv. fyziologická nula. Původně byla tato hodnota stanovena podle vývoje kura domácího na 20–21 °C (Edwards, 1902). Pozdější práce ukázala, že předchozí výsledky nebyly replikovatelné, a že vývoj zárodku kura domácího začíná od 26,7 °C (Funk and Biellier, 1944). Teplotní rozmezí 24–26 °C je proto dnes obecně považováno za hodnotu, kdy se zárodek již nevyvíjí a 27 °C za hodnotu, kdy začíná vývoj embrya (v souladu se Stoleson and Beissinger, 1999). Neinkubovaná embrya ve vejcích vydrží výrazně delší dobu plně životaschopná i při dlouhodobě nižších teplotách (0–8 °C) než embrya, u nichž byla již započata inkubace (Batt and Cornwell, 1972).

Opětovný vývoj embrya započne až ve chvíli, kdy je vejce vystaveno vhodné inkubační teplotě. Avšak po začátku inkubace mohou již mít nízké teploty fatální následky.

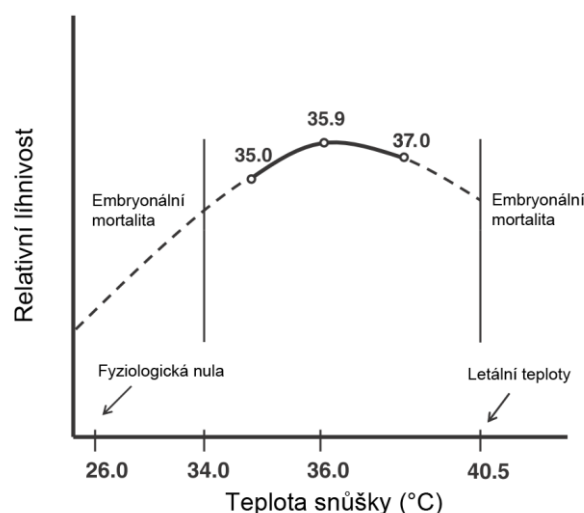
Časová prodleva mezi snášením jednotlivých vajec bývá u ptáků minimálně 1 den (např. McNally and Byerly, 1936). Odložením inkubace před kompletací celé snůšky může rodič zajistit shodný vývoj všech embryí, která se začnou vyvíjet až v době, kdy započne zahřívání, a je tak zajištěno i jejich synchronní vylíhnutí. To je možné právě díky zastavení vývoje embrya po snesení a jeho odolnosti v tomto okamžiku. V (sub)tropických oblastech však mohou být první vejce před kompletací snůšky vystavena vysokým teplotám, které mohou jejich vývoj znovu nastartovat. U vajec vystavených před kompletací snůšky venkovním teplotám nad fyziologickou nulou byla popsána výrazně menší pravděpodobnost vylíhnutí. Tento efekt se projevil po třech dnech vystavení vajec přirozeným venkovní teplotám v subtropích (Arnold, 1993; Stoleson and Beissinger, 1999). Čím víc dní byla vejce vystavena okolním podmínkám, tím nižší byla pravděpodobnost úspěšného vylíhnutí. U vajec, která se úspěšně vylíhla, byla pozorována kratší doba inkubace, což poukazuje na probíhající vývoj embrya díky venkovním teplotám. Maximální ani minimální teploty během dne neovlivnily líhnivost, šlo spíše o délku expozice vajec teplotám nad fyziologickou nulou (Stoleson and Beissinger, 1999). Je usuzováno, že právě tento efekt může ovlivnit latitudinálně velikost snůšky, neboť menší snůšky jsou častější v nižších zeměpisných šířkách (Lack, 1947; Stoleson and Beissinger, 1999). Navíc se velikost snůšky v teplém klimatu zmenšuje s postupem sezóny, pravděpodobně i vlivem zvyšování venkovní teploty (Haftorn, 1981; Arnold, 1993; Stoleson and Beissinger, 1999).

Možností, jak uchránit vejce před nevhodným vývojem vlivem venkovních teplot, je inkubace již od prvního sneseného vejce. Inkubace před kompletací snůšky navíc výrazně snižuje riziko predace (Bollinger et al., 1990). Inkubace započatá před ukončením snášení způsobuje asynchronní líhnutí vajec, což má své výhody i nevýhody. Asynchronní líhnutí zvýhodňuje nejstarší mláďata, která díky delšímu růstu mají výrazně větší hmotnost a aktivitu než ta pozdější. Poslední mláďata mívají výrazně nižší hmotnost i schopnost přežívání než dříve vylíhlá mláďata (Hahn, 1981; Zach, 1982; Bollinger et al., 1990). Jedním z vysvětlení horšího přežívání později vylíhlých mláďat může být zvýšení konkurence mezi sourozenci v době, kdy je nižší dostupnost potravy. Hahn (1981) zjistil, že existuje určitá hierarchie v krmení mláďat. První vylíhnuté mládě bylo výrazně úspěšnější při žadonění o potravu (v 82 % případů) ve srovnání s posledním (čtvrtým) mládětem, které bylo úspěšné pouze v 26 % případů. Díky asynchronnímu líhnutí mohou rodiče i v době omezených potravních zdrojů odchovat více potomků, kteří se dožijí vzletnosti. Třetí a čtvrté (popř. další) vejce jsou pak spíše záložní, pro případ, že by se první dvě nevyvíjela nebo by došlo k jejich ztrátě, například vlivem predace. Asynchronní líhnutí je tedy velkým benefitem v místech, kde je možné díky omezeným zdrojům odchovat pouze malé množství mláďat v co nejlepší fyzické kondici. U mnoha druhů ptáků ovšem nelze jednoduše stanovit počátek inkubace, neboť s narůstajícím počtem vajec ve snůšce se postupně prodlužuje doba pobytu rodičů na hnízdě. Před kompletací snůšky i přes to, že je rodič přítomen na hnízdě, však nemusí docházet k plnohodnotné inkubaci. Rodič však může v hnízdě udržovat teplotu vajec nad fyziologickou nulou, blížící se optimální inkubační teplotě (Haftorn, 1981). S kompletací snůšky nastává plnohodnotná inkubace u všech druhů.

Teplota vejce je během inkubace ovlivněna velkým množstvím faktorů. Některé hrají menší roli, jiné větší. Rychlost vychládání či naopak zahřívání vajec souvisí s jejich velikostí (teplotní

kapacitou) a izolační schopností hnízda. Tyto faktory mohou určovat dobu, po kterou mohou rodiče opustit snůšku (a jít se například krmit). Po tuto dobu nesmí dojít dlouhodobě ke kritickému poklesu či růstu teploty ve vejci, který by mohl narušit vývoj embrya.

Za přirozené inkubační optimum se ve většině laboratorních experimentů napříč druhy považuje teplota mezi 37,0–37,7 °C (Elibol and Brake, 2006; Olson et al., 2006). Je-li tato teplota udržována během celé inkubace, dochází k maximalizaci líhivosti vajec (Barott, 1937; Prince et al., 1969; Vleck and Kenagy, 1980; Piestun et al., 2008a; Collins et al., 2013; Kolářková et al., 2015; Wada et al., 2015). Rovněž v chovatelských kruzích se doporučované teploty napříč všemi skupinami ptáků pohybují mezi 35–38 °C (Miesler and Mieslerová, 2005). V přírodě naměřené inkubační teploty pro všechny skupiny ptáků lze specifikovat rozmezím 30–40 °C (Webb, 1987). V tomto rozmezí u většiny ptáků probíhá správný vývoj embrya (Obr. 1). To je však schopno zvládnout nižší či vyšší výkyvy teplot. Konkrétní hodnoty teplot mohou být výrazně ovlivněny klimatem, ve kterém daný druh přirozeně hnízdí. Inkubační teplota tučňáků se pohybuje spíše u spodní hranice (30–32 °C, Beaulieu et al., 2010), zatímco průměrná inkubační teplota u druhů hnízdících v subtropích se může pohybovat mezi 39–40 °C (Taylor et al., 2018).



Obr. 1: Závislost relativní líhivosti embrya na inkubační teplotě na příkladu kachniček karolínských (*Aix sponsa*) s vyznačeným optimálním teplotním rozmezím pro inkubaci 35–37 °C (upraveno podle DuRant et al., 2013, převzato z Pešková, 2017).

Za příliš vysoké jsou obecně považovány inkubační teploty nad 40 °C (shrnutí v Webb, 1987). Za nízké teploty jsou považovány ty pod fyziologickou nulou (27 °C). Extrémní minimální a maximální teploty nemusí způsobit defekt embrya. To, zda bude vývoj embrya postižen nevhodnými teplotami, záleží na délce expozice těmto teplotám. Pro zjištění reakce embrya na teploty mimo optimum jsou velmi vhodné laboratorní experimenty v inkubátorech, většina studií se však doposud zaměřovala na vliv jedné konstantní teploty během celé inkubace. Kromě negativního vlivu na líhivost vajec mají teploty odlišné od optima i další, ne nutně negativní, účinky. Vyšší inkubační teplota v rámci optimálního rozmezí může zkrátit dobu inkubace i o několik dní, zatímco nižší teploty ji naopak spíše prodlužují (Prince et al., 1969; D'Alba et al., 2009; Kolářková et al., 2015; Wada et al., 2015).

Prodloužení inkubační doby při nízkých teplotách je dáno pomalejším růstem embrya. U kura domácího je tento jev patrný již při 36 °C (Deeming, 1989a). Kratší doba trávená inkubací je pro rodiče jednoznačně výhodou z hlediska nižších energetických výdajů i nižšího rizika predace na hnízdě či samotného hnízda (Bosque and Bosque, 1995). Inkubace při teplotách mimo inkubační optimum má také vliv na vnímání teploty po vylíhnutí. Prenatální teplota ovlivňuje postnatální vývoj hypotalamu (části mozku zodpovědné za termoregulaci). Termoregulace mláďete po vylíhnutí je tedy pravděpodobně ovlivněna i inkubační teplotou (Nichelmann and Tzschentke, 1999; Tzschentke and Basta, 2002).

Existují i práce, které více reflektují situaci v přírodě, a které ukazují vliv krátkodobé změny teploty během inkubace. Periodické ochlazování embryí zebřičky pestré (*Taeniopygia guttata*) ~ 20 minut 15x za den na 20 °C způsobilo pomalejší růst zárodku. Ochlazovaná embrya měla po vylíhnutí menší hmotnost, avšak spotřebovala za stejný čas více živin než kontrolní skupina (Olson et al., 2006). Vystavení vyvíjejících se embryí kachen divokých (*Anas platyrhynchos*) na 10 hodin nízkým teplotám způsobilo jejich nesprávný vývoj, konkrétně deformace hlavy a krku a vyšší mortalitu. Čím později během inkubace byla vystavena embrya nízkým teplotám (8 °C), tím menší byla pravděpodobnost přežití zárodku a častěji se objevovaly deformace těla. V první polovině inkubace se projevila větší odolnost embryí oproti druhé polovině inkubace (Batt and Cornwell, 1972).

Rodiče mohou teplotou v hnízdě ovlivnit mnoha způsoby. Tyto způsoby souvisí s chováním před začátkem inkubace (vhodný výběr umístění hnízda, vhodný materiál pro stavbu hnízda, velikost snůšky) i během inkubace (přizpůsobení doby nepřítomnosti, stínění, belly-soaking apod.).

### 1.1.1 Umístění hnízda

Výběrem vhodného stanoviště pro hnízdění může rodič velmi výrazně ovlivnit úspěch reprodukce. Stanoviště je vybíráno rodičem na základě mnoha požadavků, jedním z nich může být dostupnost potravy (např. Cuttriss et al., 2015). Je-li potrava dostupná v blízkém okolí hnízda, nemusí se rodič vzdalovat od hnízda na příliš dlouhou dobu a může se více věnovat jeho inkubaci a obraně. Dalším ovlivňujícím faktorem může být pravděpodobnost výskytu predátora v daném místě a jeho okolí, prokázána například u kosa černého (*Turdus merula*, Møller, 1988). I u kulíka zlatého (*Pluvialis apricaria*) bylo prokázáno, že hnízda umístěná na rovné zemi podléhala výrazně nižší predaci než hnízda ve svahu (Whittingham et al., 2002). Jedním z vysvětlení může být rychlejší detekce predátora na větší vzdálenost v případě vhodně zvoleného místa k hnízdění. Ptáci ale nemusí spoléhat pouze na včasnou detekci predátora, ale například i na krypsí vajec. Na zemi hnízdící ptáci si vybírají substrát, na kterém jsou jejich vejce méně viditelná, tedy na základě shody barvy a velikosti vejce s podkladem (Gómez et al., 2018).

Důležitým aspektem při výběru místa pro hnízdo je vhodné mikroklima, které může výrazně ovlivnit náklady rodičů na inkubaci. Bylo prokázáno, že ptáci v tundře si vybírají teplotně stabilnější místa pro hnízdění, a to neohledně na druh ptáka či jeho velikost (Tulp et al., 2012). Experimentální manipulace, při které byla zakrývána hnízda, ukázala, že při hnízdění v místech, která jsou lépe krytá a poskytují teplotně stabilnější prostředí, vynaloží rodiče nižší náklady na inkubaci (D'Alba et al., 2009). Zajímavé je, že se neprokázal vliv mikroklimatu hnízda na inkubační teplotu vajec. Ukazuje to na fakt,

že rodiče dělají maximum pro zajištění vhodných inkubačních podmínek a hnízdí-li v termálně příznivějším prostředí, má to primárně pozitivní vliv na jejich kondici, nikoliv na embryo ve vejci.

Krytí hnízda má důležitý vliv především při vyšších rychlostech větru (D'Alba et al., 2009). Vliv větru může být minimalizován i tvarem hnízda (viz níže). Velmi důležitý je optimální výběr místa i v subtropických oblastech. U kulíka mořského (*Charadrius alexandrinus*) bylo prokázáno, že rodiče stráví více času inkubací na hnízdech, která nejsou umístěna ve stínu a nejsou chráněna alespoň část dne před sluncem, v porovnání se zakrytými hnízdy. Byla-li hnízda experimentálně zakryta či naopak odkryta, došlo k úpravě času stráveného inkubací snůšky (AlRashidi et al., 2011).

### 1.1.2 Stavba hnízda se zaměřením na výstelku hnízda

Počáteční investicí do inkubace je stavba hnízda. Naprostá většina ptačích druhů nějakým způsobem upravuje místo, které bude v budoucnu sloužit k jejich hnízdění. Ovšem náklady na výstavbu hnízda se velmi liší. Vysoké počáteční náklady na stavbu mohou snížit množství energie, které musí rodič vynaložit během inkubace. Ač je stavba hnízda velmi nákladný proces, náklady na inkubaci a péči o potomky jsou ještě vyšší (shrnuť v Mainwaring and Hartley, 2013). Velmi důležitá je konstrukce hnízda, avšak co se týče teplotních vlastností hnízda, je stěžejní především materiál, kterým je hnízdo vystláno zevnitř, tzv. výstelka.

Velikost hnízda je primárně dána velikostí snůšky a rodiče, který inkubuje. Hnízdo je důležité především z důvodu držení vajec u sebe. Správný tvar hnízda může pomoci k tomu, aby byla všechna vejce inkubována stejně (Heenan and Seymour, 2011). Velikost hnízda může být u menších druhů ovlivněna tlakem predátorů. To bylo prokázáno u kosů černých (*Turdus merula*). Při experimentech bylo potvrzeno, že větší hnízda podléhají predaci častěji než menší hnízda. Avšak v přírodě bylo pozorováno, že ptáci, kteří si stavěli větší hnízda, je stavěli v místech, kde byla tato hnízda méně nápadná (Møller, 1990).

Větší ptáci staví mělká hnízda a menší ptáci staví menší a hlubší hnízda. Menší hnízda lépe izolují, což je žádoucí, neboť menší vejce rychleji ztrácejí teplotu v chladném prostředí (či se rychleji zahřívají v teplém prostředí; Heenan and Seymour, 2011). Jsou-li vejce vystavena větru, rychlost jejich vychládání závisí na rychlosti větru. I minimální vítr přispívá k rychlejšímu ochlazení vajec (Reid et al., 2002a; Hilton et al., 2004). Studie na Arktických bahňácích ukázala, že menší druhy hnízdí v hlubších a užších hnízdech (důlcích) oproti větším druhům. Výhodou hlubších hnízd je menší vliv větru na teplotu vajec. Chladnutí vajec v hlubších hnízdech vlivem větru bylo minimální, naopak u mělkých hnízd velkých druhů vítr výrazně zrychloval chladnutí vajec (Reid et al., 2002a; Tulp et al., 2012). Avšak i mělký důlek zpomaluje chladnutí vajec v porovnání s vejcem umístěným volně na rovném povrchu (Lamprecht and Schmolz, 2004), ačkoliv hlubší důlek je samozřejmě lepší. I když je hloubka hnízdní kotlinky částečně dána druhovou příslušností, investují-li ptáci více času do hloubení důlku, může to snížit jejich náklady na inkubaci.

Byly popsány případy, kdy ptáci investovali do stavby velmi podobné hnízdu, ale tato stavba vůbec nesloužila k inkubaci vajec ani odchovávat mláďat. Nejčastěji je produkce těchto staveb vysvětlována jako ukazatel kvality samce při samičím výběru partnera, například u rákosníka australského (*Acrocephalus australis*, Berg et al., 2006). Také střízlík bažinný (*Cistothorus palustris*)

staví hnízda, která slouží při námluvách samic (Verner, 1965). Střízlík pokřovní (*Thryomanes bewickii*) naopak vytváří stavbu podobnou hnízdu, kterou používá pouze k přezimování. Střízlík bažinný staví dokonce více „hnízd“, která neslouží k péči o vejce a mláďata, ale pravděpodobně spíše jako návnady pro predátory, které je odvádějí od reálného hnízda. Bylo prokázáno, že větší počet nepravých hnízd v okolí zajišťuje větší reprodukční úspěch (Leonard and Picman, 1987).

Kromě tvaru hnízda či důlku výrazně ovlivňuje mikroklima v hnízdě i složení a velikost výstelky. Již malé množství výstelky v důlku výrazně zpomaluje rychlost chladnutí snůšky, a to až o 25 % oproti důlku bez výstelky. Přidání většího množství výstelky už nemá tak silný efekt (Reid et al., 2002a). U arktických bahňáků se ukázalo, že tloušťka výstelky v hnízdě klesá s rostoucí hmotností druhu. Nejsilnější výstelku tak lze najít u nejmenších druhů, kteří do její stavby investují velké množství energie (Tulp et al., 2012). V chladných oblastech jsou do výstelky často používány materiály s dobrými izolačními vlastnostmi, které izolují i v případě, že jsou vlhké, například různé druhy lišejníků (Reid et al., 2002a). Zajímavým příkladem materiálu je peří, které je pro ptáky velmi dobře dostupné a má výborné izolační vlastnosti. Avšak u většiny druhů nebývá do výstelky zakomponováno. Pravděpodobně je to způsobené tím, že ač má výborné izolační vlastnosti za sucha, za vlhka je ztrácí (Hilton et al., 2004; Tulp et al., 2012) a navíc přítomnost peří v hnízdě může zvyšovat pravděpodobnost predace snůšky (Møller, 1987).

V tropických a subtropických oblastech bylo složení výstelky doposud méně studováno. Testování vhodnosti výstelkových materiálů lze lépe studovat v laboratoři, kde je možné odfiltrovat mnohé vnější vlivy. Mayer et al. (2009) ukázali, že kulíci hvízdaví (*Charadrius melodus*) sbírají do výstelky kamínky, které při vysokých teplotách zlepšují mikroklima v hnízdě a zpomalují zahřívání snůšky, je-li rodič nepřítomen. Zjistili, že kamínky, které si kulíci zvolili do výstelky se zahřívají o 0,8 °C pomaleji než ostatní kamínky dostupné v okolí hnízda. Důležitost velikosti výstelky lze též dokázat manipulací hnízda v přírodě. U kachniček karolínských (*Aix sponsa*) byla experimentálně zmenšena výstelka. Díky tomu docházelo k rychlejšímu chladnutí vajec a samice reagovaly tak, že zkrátily dobu ranní nepřítomnosti a zvýšily svou celkovou přítomnost na hnízdě. Díky zvýšení inkubačního úsilí se neprojevila menší izolace snůšky na době inkubace či líhnivosti vajec. Nepodařilo se prokázat ani vliv zvýšení inkubačního úsilí na hmotnost rodičů (McClintock et al., 2014).

Stavba hnízda není definitivní proces a nekončí po snesení vajec a začátku inkubace. Hnízdo, a především vnitřní výstelka, jsou rodiči upravovány neustále (Ratchliffe, 1976; Székely and Szentirmai, 2002). Experimenty se změnou objemu výstelky u kulíků mořských (*Charadrius alexandrinus*) ukázaly, že ptáci velmi rychle a efektivně reagují na změnu vlastností hnízda a jsou ve velmi krátkém čase schopni uvést hnízdo do původního stavu (Székely and Szentirmai, 2002). Pokud tedy vlivem manipulace s výstelkou dojde k narušení mikroklimatu hnízda, ptáci jsou schopni různými způsoby kompenzovat negativní vlivy změny podmínek na vejce.

Samotné materiály nemusí sloužit pouze ke zlepšení mikroklimatu snůšky či stability hnízda, ale může jít též o prostředek při námluvách. U bělořítů černých (*Oenanthe leucura*) se ukázalo, že kamínky do hnízd nosí především samci, a že pravděpodobně toto chování souvisí s projevem kvality samce (Moreno et al., 1994). Bylo prokázáno, že špaček obecný (*Sturnus vulgaris*) zabudovává do výstelky zelený materiál za účelem získání samice (Brouwer and Komdeur, 2004). Luňák hnědý (*Milvus*

*migrans*) zabudovává do hnízda velmi výrazné prvky – kusy bílých plastů, a podíl těchto prvků v hnízdě koreloval s kvalitou teritoria, kvalitou rodičů a jejich agresivitou při hájení zdrojů (Sergio et al., 2011).

### 1.1.3 Velikost snůšky

Počet vajec ve snůšce závisí na konkrétním druhu. Velikost snůšky může být dále určena tím, kolik potomků jsou schopni rodiče uživit či v jakých zeměpisných šířkách druh hnízdí (Lack, 1947). Samice v horší kondici snášejí menší množství vajec v rámci jedné snůšky, což bylo experimentálně prokázáno u lejsků černohlavých (*Ficedula hypoleuca*, Slagsvold and Lifjeld, 1988). Počet vajec ve snůšce přitom ovlivňuje teplotu jednotlivých vajec. Tento efekt je minimální například u bahňáků, jejichž snůška je nejčastěji čtyřvaječná (a kterým se věnuje tato práce), u kterých jsou všechna vejce zahřívána identicky. Avšak i v těchto snůškách záleží na orientaci vejce, neboť jsou-li vejce otočena ostrým pólem k sobě, udržuje se mezi nimi vyšší teplota (Šálek and Zárybnická, 2015). V kontrastu s tím jsou například snůšky sýkory koňadry (*Parus major*), ale i mnoha dalších druhů, které běžně čítají i 10–12 vajec. Zde hraje výraznou roli pozice vejce v rámci snůšky, neboť vejce na okraji snůšky vykazují nižší teploty než vejce uprostřed snůšky (Boulton and Cassey, 2012). Z toho vyplývá, že ve velkých snůškách nejsou všechna vejce v jednu chvíli stejně efektivně zahřívána. Vyrovnání rozdílů mezi vejci lze dosáhnout jejich častou manipulací. Pokud by s vejci nebylo manipulováno, pravděpodobně by se embrya ve vejcích na okraji snůšky vyvíjela pomaleji a nesprávně, neboť by byla dlouhodobě vystavena nižším teplotám, a mohlo by dojít k jejich úhynu. V menších snůškách mají vejce oproti tomu v jednu chvíli velmi podobné teploty (Reid et al., 2000). Opustí-li rodič hnízdo za nízkých venkovních teplot, vejce ve větší snůšce chladnou pomaleji než vejce v menší snůšce. Avšak po návratu rodiče jsou větší snůšky zahřívány pomaleji než menší a k jejich opětovnému zahřátí je potřeba větší množství energie (Reid et al., 2000; Boulton and Cassey, 2012). Umělé zvětšování snůšek u špačka obecného (*Sturnus vulgaris*) ukázalo, že mláďata z větších snůšek mají menší šanci na přežití a jestliže se vylíhnou, jsou v horší kondici oproti těm z menších snůšek (Reid et al., 2000). Ptáci s menšími snůškami jsou schopni úspěšně vyvést více mláďat než ptáci stejného druhu s většími snůškami (Reid et al., 2000; D'Alba et al., 2009). To může souviset právě s nevhodným inkubačním režimem velkých snůšek a periodickým vychládáním vajec posunutých směrem k okrajům snůšky.

Negativní vliv velikosti snůšky na vývoj zárodku může být minimalizován. Jedním ze způsobů je vynaložení většího inkubačního úsilí rodičů, kteří mohou v případě větších snůšek trávit delší čas na hnízdě (Bollinger et al., 1990). Dalším způsobem je vhodně zvolené místo pro hnízdění, které poskytuje teplotně stabilnější prostředí (D'Alba et al., 2009). Je-li navíc teplotně mírná sezóna, mohou se jevit velké snůšky jako vhodnější a ptáci s většími snůškami mohou vykazovat větší reprodukční úspěch. Naopak v sezónách s extrémními výkyvy teplot mohou být zvýhodněni ptáci s menšími snůškami.

### 1.1.4 Biparentální a uniparentální inkubace

Teplotu vajec během inkubace výrazně ovlivňuje příspěvek rodičů. Stará-li se o hnízdo pouze jeden rodič, jde o uniparentální inkubaci, starají-li se oba rodičové, jedná se o biparentální inkubaci. U

uniparentálních druhů musí kompletní péči o snůšku obstarat pouze jeden rodič. Avšak i ten nemůže být během inkubace přítomen neustále a potřebuje čas především pro získání potravy. To, jak často opouští uniparentální druhy své hnízdo, souvisí s jejich velikostí. Menší druhy opouštějí hnízdo častěji ve srovnání s většími druhy. To může souviset například s tím, že menší druhy mají menší vejce a ta rychleji vychládají (či se naopak rychleji zahřívají) při jejich nepřítomnosti a mohou tak dříve dosáhnout extrémních teplot poškozujících embryo. Je zajímavé, že v součtu se doba nepřítomnosti neliší mezi druhy různých velikostí, větší druhy tedy opouštějí hnízdo méně často avšak na delší dobu (Tulp and Schekkerman, 2006).

Zhruba u 50 % čeledí ptáků inkubují oba rodiče (shrnutí v Deeming 2002). Biparentální inkubace zásadně zvyšuje přežívání mláďat, a také snižuje tlak na jednoho rodiče, neboť dojde k rozdělení inkubačního úsilí mezi oba jedince. Avšak každý z rodičů může přispívat k inkubaci velmi odlišnou měrou (Sládeček et al., 2019). Biparentální inkubace a péče o mláďata se ukazuje jako klíčová především v místech s extrémně chladným či naopak horkým klimatem. Zajímavým příkladem jsou druhy, u kterých se vyskytují obě strategie, tzn. najdeme u nich hnízda, o která se stará pouze jeden rodič, i hnízda o která se starají oba rodiče. Takovým příkladem je jespák písečný (*Calidris alba*). U tohoto druhu bylo prokázáno, že snůšky uniparentálních jedinců bývají prokazatelně více času ponechány bez inkubace (42 % času) ve srovnání s biparentálními hnízdy (30 % času, Reneerkens et al., 2011). Ačkoliv uniparentální rodiče opouštěli své snůšky častěji než biparentální, byli schopni kompenzovat svou častější nepřítomnost na hnízdě (která může prodloužit inkubaci, či negativně ovlivnit embryo) větším tepelným tokem do vajec, tzn. vyšší teplotou zahřívání (až o 1,4 °C) po návratu na hnízdo (Reneerkens et al., 2011). Experimentální odebrání samce u hnízdicího páru lejska černohlavého (*Ficedula hypoleuca*) během inkubace způsobilo nižší hmotnost mláďat po vylíhnutí než u snůšek, kde inkubovali oba partneři (Amundsen and Slagsvold, 1991). Rozdíly v hmotnosti mláďat mohou být způsobeny nedostatečnou inkubací jednoho rodiče. Biparentální druhy nejsou pravděpodobně schopny plně kompenzovat ztrátu partnera.

### 1.1.5 Vliv venkovních podmínek

Teplotu vejce ovlivňuje významným způsobem i okolní prostředí a teplotní gradient, který vzniká mezi vejcem a okolím. Venkovní teplota se mění nejen periodicky během dne či podle aktuálního počasí, ale také v průběhu sezóny. Rodiče své inkubační úsilí přizpůsobují aktuální situaci a nastanou-li extrémní podmínky (vysoké či nízké teploty, déšť) usilují o to, aby těmto podmínkám nebyla embryo ve vejci přímo vystavena a setrvávají na hnízdě co nejdéle dobu (Graul, 1975; Cresswell et al., 2003; Tulp and Schekkerman, 2006; AlRashidi et al., 2010). Tyto efekty jsou patrné napříč druhy. Teplota uvnitř vajec je i přes inkubační úsilí rodičů silně závislá na venkovní teplotě (Székely and Szentirmai, 2002). U druhů, které čelí riziku podchlazení vajec, klesá přítomnost rodičů s rostoucí venkovní teplotou. S růstem venkovní teploty se zkracuje se i doba sezení v kuse (Verner, 1965; Tulp and Schekkerman, 2006; McClintock et al., 2014). Nejčastěji rodiče opouští hnízdo v částech dne, ve kterých se venkovní teplota nejvíce blíží inkubační teplotě (Reneerkens et al., 2011). Denní druhy inkubují téměř kontinuálně během noci. Kontinuální noční inkubace může kromě nízkých teplot souviset i se zvýšeným rizikem predace (Sládeček et al., 2019).



Oproti tomu v subtropických oblastech s vysokými venkovními teplotami s rostoucí teplotou během dne dochází k častějšímu střídání rodičů na hnízdě a menším pauzám v inkubaci. Účelem je minimální vystavení vajec vysokým teplotám. Nejdelší nepřítomnost rodičů na hnízdě byla u kulíků mořských pozorována každý den mezi 18. a 20. hod. Naopak mezi 10. a 14. hod., kdy byly venkovní teploty nejvyšší a hrozilo riziko poškození embryí, probíhala inkubace téměř kontinuálně (AlRashidi et al., 2010). Jednou adaptací ptáků v extrémně teplém podnebí je tzv. belly-soaking provozovaný i naším cílovým druhem – čejkou černoprskou *Vanellus indicus* (vlastní pozorování). Dále byl pozorován například u kulíků mořských (*Charadrius alexandrinus*, Amat and Masero, 2007, 2009), rybáků obecných (*Sterna hirundo*, Nisbet, 1983). Jde o namáčení břišních per ve vodě při vysokých venkovních teplotách. U rybáků obecných bylo zjištěno, že „belly-soakují“, je-li venkovní teplota vyšší než 31 °C (Nisbet, 1983). Při opuštění snůšky rodičem za účelem belly-soakingu byly ve vejcích naměřeny ideální inkubační teploty (průměrně 37,7 °C). To naznačuje, že se toto chování nevyvinulo jako způsob snížení teploty vajec, ač je v tomto ohledu velmi efektivní, ale primárně kvůli snížení teploty těla inkubujících rodičů (Amat and Masero, 2007). Došlo-li k i následné inkubaci po belly-soakingu, snížila se teplota vajec dosažená během nepřítomnosti rodiče na teplotu, kterou mělo vejce před opuštěním hnízda rodičem (Amat and Masero, 2007). Zajímavým chováním je též stínění vajec pozorované například u čejek korunkatých (*Vanellus coronatus*) v jižní Africe (Downs and Ward, 1997). Při stínění dochází především k ochlazování těla rodiče i samotné snůšky vlivem větru, a také k zabránění zahřívání vajec vytvořením stínu. Další typ chování pozorovaný během inkubace vajec při vysokých venkovních teplotách je zahrabávání vajec u kulíka mořského (*Charadrius alexandrinus*). Tento druh zahrabává vejce při odchodu od hnízda. Zahrabaná vejce jsou lépe kamuflovaná než nezahrabaná, ale má to pozitivní vliv i na termoregulaci (Amat et al., 2012).

## 1.2 Otáčení

Třetím faktorem spojeným s inkubací vajec u ptáků je manipulace s vejci. Tento fenomén byl studován téměř výhradně při laboratorních experimentech. Otáčení zásadním způsobem ovlivňuje vývoj embrya. Úplná absence otáčení po celou dobu inkubace vede ve většině případů k úhynu embrya a tento negativní vliv nelze kompenzovat ani optimálním nastavením teploty a vlhkosti (Eycleshymer, 1907; Tullett and Deeming, 1987; Deeming, 1989b). Neotáčení způsobuje též nižší hmotnost zárodku a delší dobu inkubace (Tullett and Deeming, 1987).

Díky četným laboratorním experimentům víme, pro jaké části vývoje je otáčení nejzásadnější. Otáčení vejce stimuluje vývoj krevních vlásečnic skrze lokální zvýšení tlaku krve, tím následně dochází k maximalizaci příjmu živin ze žloutku. Není-li vejce otáčeno 3. – 7. den inkubace, dochází ke zpomalení vaskularizace vejce, k horšímu růstu embrya a snižuje se pravděpodobnost vylíhnutí (New, 1957; Deeming, 1989a, 1989b; Elibol and Brake, 2004; Tona et al., 2005). Naopak je-li vejce alespoň v tomto období otáčeno, zmírňuje to pozdější výpadky a problémy vzniklé neotáčením. Během 3. – 7. dne inkubace se dějí tři zásadní věci: diferenciace embrya, expanze extra-embryonálních membrán a formace subembryonické tekutiny. Je-li vejce otáčeno v kritické periodě, dochází ke snížení pravděpodobnosti předčasného přilepení chorioalantoidní a vaječné membrány, díky tomu, že otáčení zabraňuje vysychání bílkové vrstvy mezi nimi (New, 1957). Existují ovšem také období, při kterých

výpadek otáčení nemá zásadní vliv na vývoj embrya. Otáčení 8. – 11. den má stejný efekt, jako kdyby vejce nebyla otáčena během inkubace vůbec (New, 1957; Elibol and Brake, 2004). V druhé polovině inkubace může být absence otáčení vajec zodpovědná také za nižší tep srdce a nižší spotřebu kyslíku embryí (Pearson et al., 1996). Méně otáčená vejce mají po vylíhnutí mláděte vysoký zbývající obsah bílku, nedostatečné využití bílku může být příčinou vysoké mortality málo otáčených vajec (Tona et al., 2005).

Ačkoliv je zřejmé, že otáčení je zásadní pro vývoj embrya, mnohem méně je jasné to, jakým způsobem má být vejce otáčeno. Manipulace s vejcem může být definována dvěma hodnotami: frekvencí manipulací během dne a velikostí úhlu o který je vejce otočeno, popřípadě i osou podle které je vejce otáčeno. Ve všech laboratorních experimentech byl prokázán pozitivní vliv největšího testovaného úhlu otáčení na líhnivost, ať už to byl úhel 45°, 90° nebo 180°. Jednoduše řečeno, čím větší byl úhel otočení, tím lepší bylo přežívání embryí. Stejně tak i je tomu i s frekvence otáčení: častější otáčení během dne zvyšuje líhnivost vajec (Eycleshymer, 1907; Funk and Biellier, 1944; Schalkwyk et al., 2000; Elibol and Brake, 2006a, 2006b). Ačkoliv jsou ve veškerých experimentech otáčena vejce podél delší osy, Schalkwyk et al. (2000) prokázali pozitivní vliv otáčení pštrosích vajec kolem kratší osy vejce. Existuje několik prací, které se zabývají otáčením vajec u ptáků ve volné přírodě (Gee et al., 1995; Beaulieu et al., 2010; Shaffer et al., 2014; Clatterbuck et al., 2017; Taylor et al., 2018). Ty ukazují, že frekvence manipulací s vejcem během dne je výrazně častější než hodnoty, které byly experimentálně ověřovány v inkubátorech při výše zmíněných studiích.

V přírodě může mít manipulace s vejcem i další důvody. Například je využívána k posunu vajec v rámci hnízda, tímto způsobem dochází k optimalizaci inkubační teploty. Tak je tomu spíše u druhů s větším počtem vajec ve snůšce, například u pěvců (Boulton and Cassey, 2012). Taylor et al. (2018) diskutují, že otáčení vajec může být asociováno s výměnou partnerů na hnízdě.

### 1.3 Humidita

Humidita je také jedním ze základních faktorů ovlivňujících vývoj embrya ve vejci. Vhodná úroveň vlhkosti při inkubaci zajišťuje ideální úbytek vody z vejce a správný vývoj embrya. Při vyšší humiditě během inkubace dochází k pomalejšímu poklesu váhy embrya a při nižší je tomu naopak (Lomholt, 1976). Pokles váhy vejce během inkubace je přirozeným jevem, kterého se využívá například při určování stáří embrya (Westerskov, 1950). Vyšší hmotnost po vylíhnutí nemusí nutně znamenat lepší přežívání embrya. Naopak, je-li vysoké hmotnosti dosaženo díky špatnému nastavení vlhkosti, jsou embrya postižena špatným vývojem a minimálním přežíváním (Bruzual et al., 2000).

V ptačích hnízdech se vlhkost pohybuje zhruba mezi 30–50 %, avšak může dosahovat i ke 100 % (Lomholt, 1976). Měření vlhkosti v hnízdě je velmi problematické, neboť nejde o zcela uzavřený prostor a hodnoty velmi kolísají. Nejvyšší líhnivosti bylo při umělé inkubaci dosaženo při 60 % (Barott, 1937), 50 % (Robertson, 1961) i 43 % (Bruzual et al., 2000) po celou dobu inkubace. V umělých líhních je napříč skupinami ptáků doporučovaná vlhkost 40–60 % a následné zvýšení posledních několik dní před vylíhnutím na 70–85 % (Miesler and Mieslerová, 2005). To koresponduje se zjištěním, že vysoká vlhkost způsobuje vysokou mortalitu embryí na začátku inkubace a nízká vlhkost způsobuje vysokou mortalitu na konci inkubace (Robertson, 1961).

Ptáci mohou vlhkost (a s ní spojenou teplotu) ovlivňovat několika způsoby. Jedním z nich je konstrukce a izolace hnízda. V otevřeném hnízdě na zemi není možné (nehledě na druh ptáka) udržovat dlouhodobě výrazně odlišnou vlhkost od té, která je v okolí hnízda, lze ji pouze lehce snížit či zvýšit. Naopak u kalichovitých hnízd na stromě (typicky pěvci) bylo prokázáno, že ptáci mohou velmi efektivně udržet výrazně odlišnou vlhkost, avšak záleží na izolačních vlastnostech hnízda (Deeming, 2011). Konstrukce hnízda může tedy velmi výrazně ovlivnit mikroklima v hnízdě. Tento jev je patrný napříč druhy i řády. Bylo prokázáno, že v místech, kde je přílišná vlhkost prostředí, může být vlhkostí ovlivněna stavba hnízda. U čejky chocholaté (*Vanellus vanellus*) je mohutnost výstelky ovlivněna vlhkostí podkladu. Ve větším vlhku měly čejky prokazatelně větší výstelky (Kubelka et al., 2019). V tomto případě pravděpodobně nejde ani o přílišnou vlhkost, jako spíše o nízké teploty, které výpar vody způsobuje, a kterým by byla vejce vystavena.

Další možností, jak ovlivnit vlhkost v hnízdě, je ventilace. Ve chvíli, kdy rodič alespoň na chvíli přestane sedět na vejcích, dojde k vyrovnání hodnot vlhkosti v hnízdě a mimo hnízdo. Při pokusu s umělou manipulací vlhkosti (zvlhčení, vysušení) v hnízdě během inkubace u hýla rudoprsého (*Haemorrhous mexicanus*) a palmovníka tmavého (*Phainopepla nitens*) se však ukázalo, že ptáci při skokovém poklesu či nárůstu neregulují vlhkost v hnízdě skrze ventilaci (Walsberg, 1983). Udržování vlhkosti může být spíše vedlejším efektem udržování vhodné inkubační teploty, neboť hladina vlhkosti velmi úzce souvisí s teplotou.

Spíše, než aktivitou rodiče je vlhkost udržována vlastnostmi samotného vejce. Při umělé inkubaci ve stejných podmínkách byly zjištěny rozdíly ve ztrátě hmotnosti vejce (velikosti výparu vody) mezi jednotlivými druhy. Během inkubace při identické teplotě a vlhkosti vejce ptáků hnízdících ve vlhkém prostředí ztrácela výrazně více hmotnosti než vejce ptáků hnízdících v suchých habitatech. To ukazuje na fakt, že propustnost ptačí skořápky pro vodu je adaptována podle vlhkosti prostředí, kde daný druh hnízdí (Lomholt, 1976). V tomto experimentu nejrychleji ztrácela hmotnost vejce potápky roháče (*Podiceps cristatus*), která si staví plovoucí hnízda, v nichž je hnízdní materiál permanentně nasáklý vodou a vlhkost v hnízdě je tedy téměř 100 %. Celkově lze tento jev vysvětlit pórovitostí skořápky vejce, která je pravděpodobně adaptována na konkrétní habitat, v němž daný druh hnízdí a je-li vejce vystaveno jiným vlhkostním podmínkám, než na které je adaptováno, může to vést k nesprávnému vývoji embrya.

Ač může vlhkost výrazně ovlivnit vývoj embrya, ve srovnání s teplotou a otáčením se jedná spíše o doplňkový efekt, který je možná více než chováním rodičů ovlivněn vlastnostmi skořápky – její pórovitostí.

## 1.4 Cílové druhy

Pro terénní výzkum byly vybrány dva druhy rodu *Vanellus* z řádu dlouhokřídlých (Charadriiformes), čeledi kulíkovitých (Charadriidae). Rod čítá 28 druhů, z nichž většina hnízdí v tropech a subtropích. Avšak tento rod můžeme nalézt celosvětově s výjimkou Severní Ameriky (Livezey, 2010). Většina studií na tomto rodu se zaměřuje na čejku chocholatou v temperátu. Druhy, na které se zaměřuje tato práce, mají podobně dlouhou inkubaci kolem 27 dní. Jejich mláďata jsou

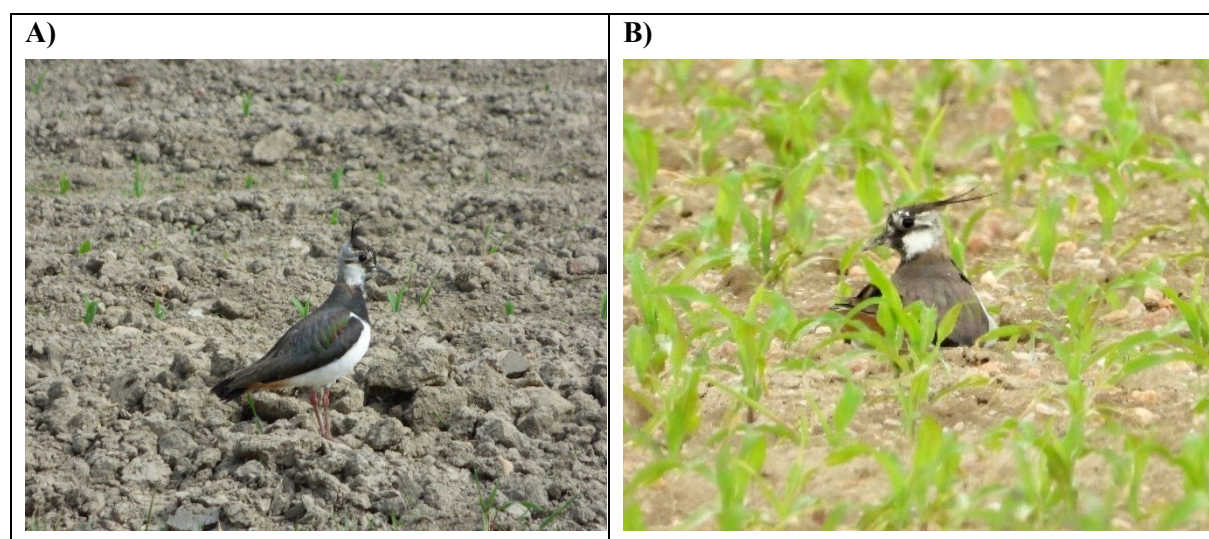
prekociální a mají i podobně velká vejce. Tyto druhy mají převážně denní aktivitu. Ačkoliv v současné době existují práce zabývající se hnízděním obou druhů čejek, dosud nebyla publikována studie, která by popisovala inkubační teplotu a režim otáčení u těchto druhů a faktory, které je ovlivňují.

#### 1.4.1 Čejka chocholatá (*Vanellus vanellus*)

Čejka chocholatá (Obr. 2) je na území naší republiky tažným druhem. Jedná se o druh s palearktickým rozšířením, u kterého dochází k celosvětovému propadu početnosti a může být v blízké budoucnosti ohrožen (BirdLife International 2017).

Hnízdo tvoří důlek, který je vystýlán suchými stébly obilovin a jiných trav (vlastní pozorování). Objem výstelky je velmi variabilní. Bylo prokázáno, že objem výstelky je větší v místech, kde je vlhčí substrát, na kterém čejky hnízdí (Kubelka et al., 2019). V naprosté většině případů obsahuje jedna snůška 4 vejce (89 %), avšak s postupující sezónou se mohou častěji objevovat snůšky s menším počtem vajec (2–3), především jsou menší snůšky obvyklé pro náhradní hnízdění (Šálek, 1995). Na inkubaci vajec se podílejí oba rodiče, avšak samec o něco méně než samice (Sládeček et al., 2019). Potrava čejek chocholatých se skládá převážně z bezobratlých živočichů (Baines, 1990; Gillings and Sutherland, 2007). Ke krmení může docházet ve dne i v noci (Gillings and Sutherland, 2007).

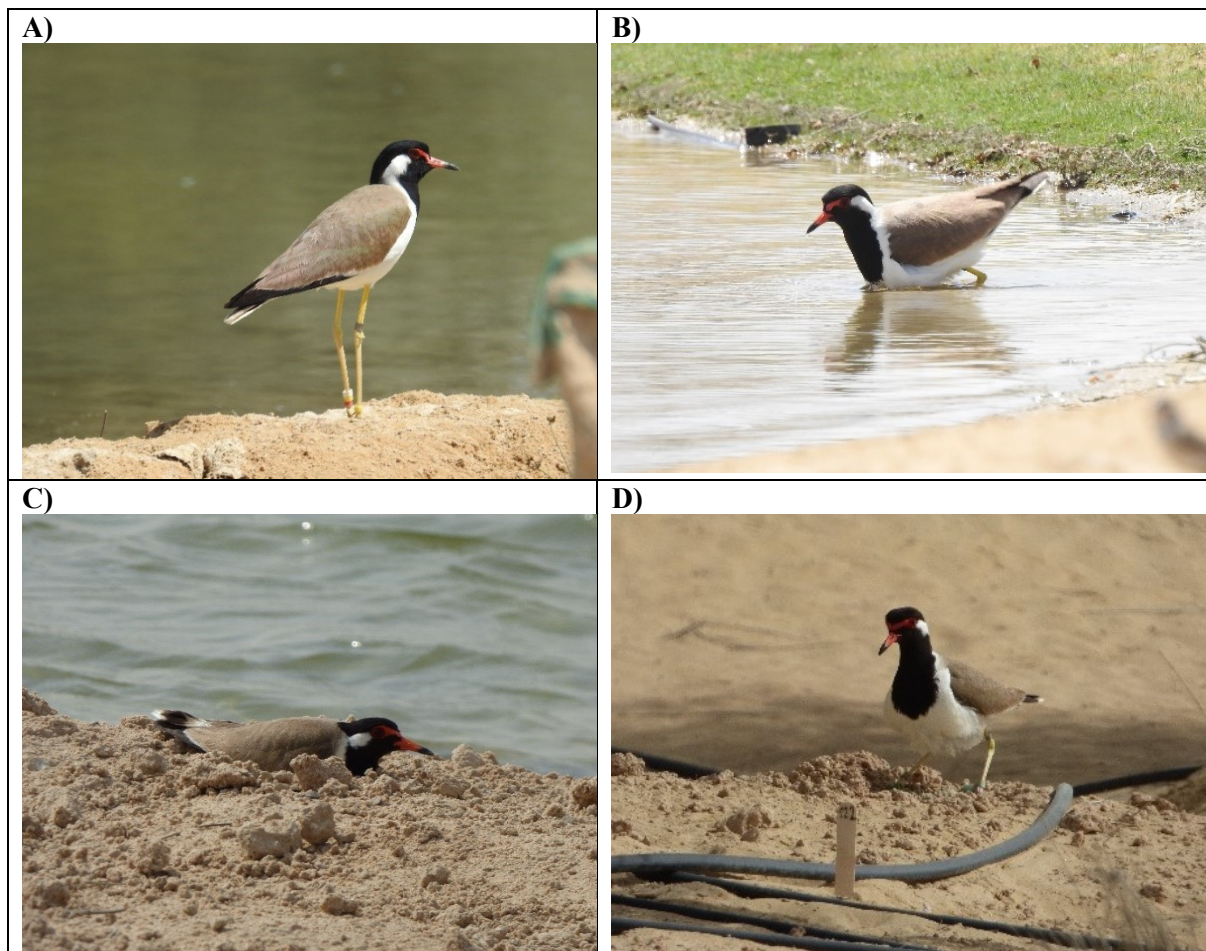
Populace čejky chocholaté v České republice je odhadována na 5000–7000 párů (Kubelka et al., 2018). V jižních Čechách (kde probíhal také sběr dat do této diplomové práce) je nezdar snůšky způsoben nejčastěji predací. Predace může významně ovlivňovat denní rytmy během inkubace (Brynychová et al., 2020). Mezi hlavní predátory na českobudějovicku patří: liška obecná (*Vulpes vulpes*), kuna skalní (*Martes foina*), jezevec lesní (*Meles meles*), ale také někteří ptáci, například vrána černá (*Corvus corone*). Mezi lety 2011–2015 zde bylo úspěšně vylíhnuto 38,2 % snůšek a 47,9 % bylo predováno (Kubelka et al., 2018). Velkým problémem je též pokles výskytu udržovaných pastvin a podmáčeních luk, z tohoto důvodu začal tento druh hnízdit na orné půdě (Shrubb, 2010). Variabilita mikroklimatu různých hnízdních habitatů může ovlivňovat i inkubační teplotu a režim otáčení vajec během inkubace.



Obr. 1: Čejka chocholatá střežící kuřata (A), inkubující vejce (B). Zdroj: A – L. Pešková; B – M. Šálek.

### 1.4.2 Čejka černoprsá (*Vanellus indicus*)

Oproti předchozímu druhu je čejka černoprsá (Obr. 3) výrazně méně studována. Jedná se o stálý, popř. tažný druh. Podle IUCN jde o málo dotčený taxon. Tento druh je rozšířen v subtropech a tropické části Asie od Iráku po Malajsii (BirdLife International 2016). Populace, na které probíhal sběr dat pro tuto diplomovou práci, spadá do poddruhu *Vanellus indicus* ssp. *eigneri*. Ukazuje se, že tento druh je zvyklý na přítomnost člověka, je méně plachý a dokáže v blízkosti člověka i hnízdit (Sethi et al., 2011, vlastní pozorování).



Obr. 2: Čejka černoprsá při odpočinku (A), při belly-soakingu (B), inkubující vejce (C), stínící snůšku (D). Zdroj: A, C, D – L. Pešková; B - M. Šálek.

Hnízdo má podobu mělkého důlku vystlaného materiálem různého druhu. Bylo pozorováno, že se oba partneři podílí na stavbě hnízda stejným dílem (Muralidhar and Barve, 2013; Saxena and Saxena, 2013). Tento druh snáší zpravidla 3–4 vejce, méně často 2 vejce (Sethi et al., 2011; Muralidhar and Barve, 2013; vlastní pozorování). Inkubace trvá 28–30 dní a podílejí se na ní oba partneři. U tohoto druhu čejek se objevuje double-brooding nejen jako náhradní snůška. V případě vyvedených mláďat, souběžně s inkubací druhého hnízda probíhá i péče o potomky z prvního hnízda (Hoyo et al., 1996). Regulaci tělesné teploty dospělce, a pravděpodobně i teploty a vlhkosti v hnízdě, zajišťují dospělci



smáčením peří na hrudi (Obr. 3 B), tzv. belly soaking (Saxena and Saxena, 2013; vlastní pozorování). Tento druh trpí mizením písčitých břehů, na kterých nejčastěji hnízdí (Karakas, 2016).

Predátoři vajec závisí na místě výskytu, v Indii jsou to nejčastěji promyky, psi, prasata, hadi, vrány (*Corvus splendens*, *Corvus macrorhynchos*), luňák hnědý (*Milvus migrans*), kukačka havraní (*Centropus sinensis*), krahujec šikra (*Accipiter badius*) či káně běhochovostá (*Buteo rufinus*), dále bývají vejce ohrožena zemědělskými aktivitami a rozdupáním pasoucím se dobytkem (Sethi et al., 2011; Karakas, 2016).

## 2 CÍLE PRÁCE

Ve své práci jsem se věnovala vybraným aspektům inkubace u ptáků, především inkubační teplotě a režimu otáčení vajec ve vztahu k vlastnostem hnízdní výstelky, okolní teplotě a denní době.

Diplomová práce si klade za cíl odpovědět na následující otázky:

i) Vliv výstelky na inkubační teplotu u čejky černoprse:

- Může typ substrátu, na kterém leží vejce, ovlivnit teplotu uvnitř vejce při vysokých venkovních teplotách?
- Má na zahřívání vejce vliv konkrétní složení podkladového substrátu a poměr jednotlivých složek? Je možné určit, jaký materiál či poměr mezi nimi je při vysokých venkovních teplotách nejvhodnější pro teplotní komfort vajec?
- Zajišťuje materiál nalezený v reálných hnízdech čejky černoprse lepší tepelný komfort vajec než jiný materiál dostupný v okolí?

ii) Faktory ovlivňující teplotu ve vejci u čejky chocholaté a čejky černoprse:

- Liší se průměrná inkubační teplota u těchto dvou druhů vzhledem k velmi odlišnému klimatu, v němž žijí?
- Co ovlivňuje inkubační teplotu? Má na inkubační teplotu vliv denní doba, venkovní teplota, fáze inkubace, složení či velikost výstelky? Liší se v některých z těchto atributů temperátní a subtropická čejka?

iii) Faktory ovlivňující otáčení vajec u čejky chocholaté a čejky černoprse:

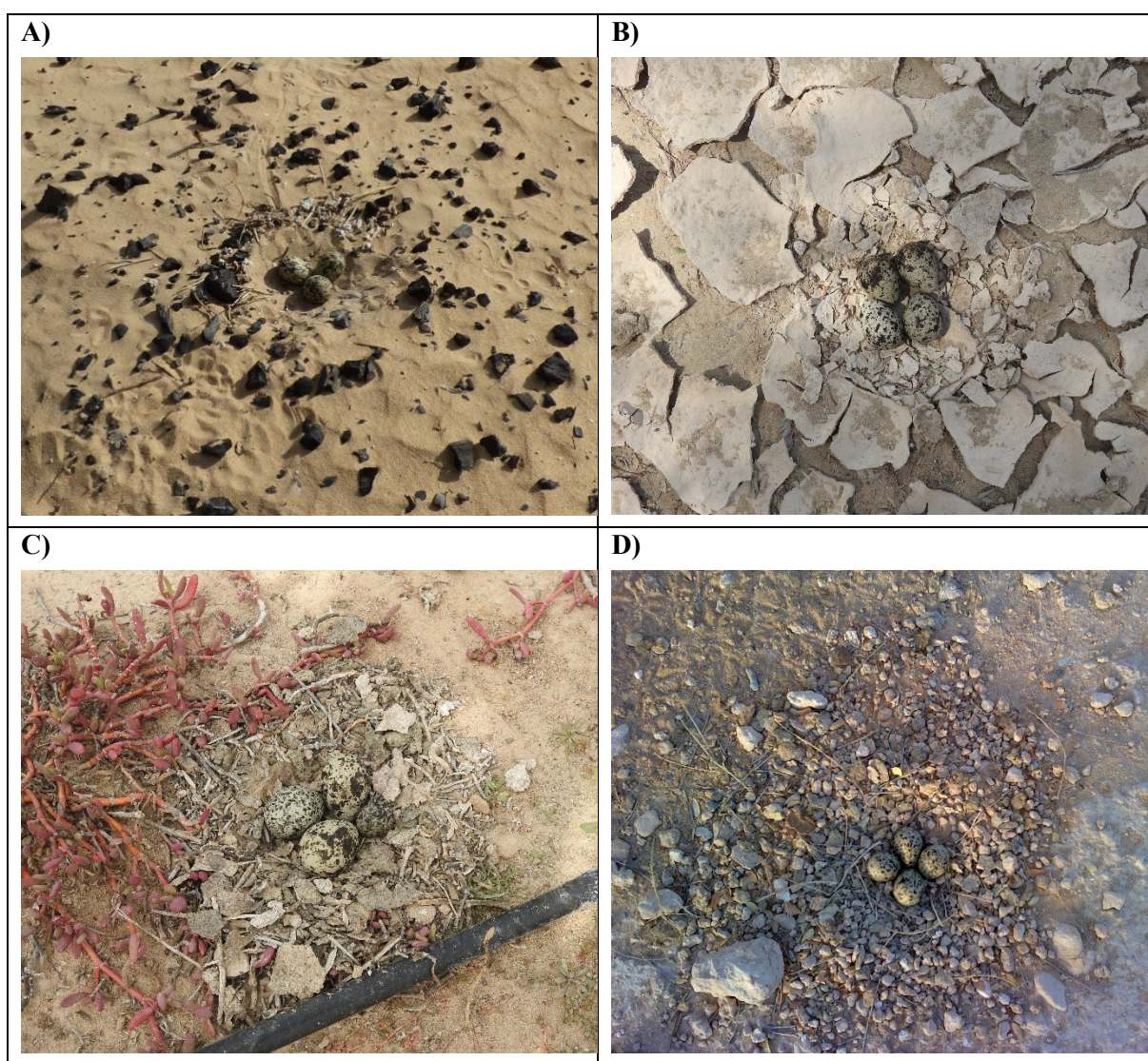
- Jak často a o kolik stupňů jsou vejce během dne otáčena?
- Jakými faktory je ovlivněno to, zda je s vejcem manipulováno? Má na frekvenci manipulace a úhel otočení vejce vliv venkovní teplota, fáze inkubace, složení či velikost výstelky? Liší se manipulace s vejcem během dne?
- Liší se hodnoty otáčení u obou druhů?

### 3 MATERIÁL A METODIKA

#### 3.1 Vliv výstelky na teplotu vejce – laboratorní experiment

##### 3.1.1 Sběr materiálu

Sběr materiálu probíhal v roce 2018 na lokalitě Al Qudra Lakes, Al Marmoom Desert Conservation Reserve ve Spojených arabských emirátech. Po ukončení hnízdního pokusu čejek černoprských byl sesbíráán materiál, jenž tvořil výstelku v jejich hnízdech (Obr. 4). V okolí každého z odebraných hnízd byl také sbírán materiál, který by teoreticky mohl sloužit pro stavbu výstelky (zbytky rostlin, kamínky, uhlíky z ohnišť apod.). Také bylo odebráno dostatečné množství písku, jako kontrola pro následný pokus v laboratoři.



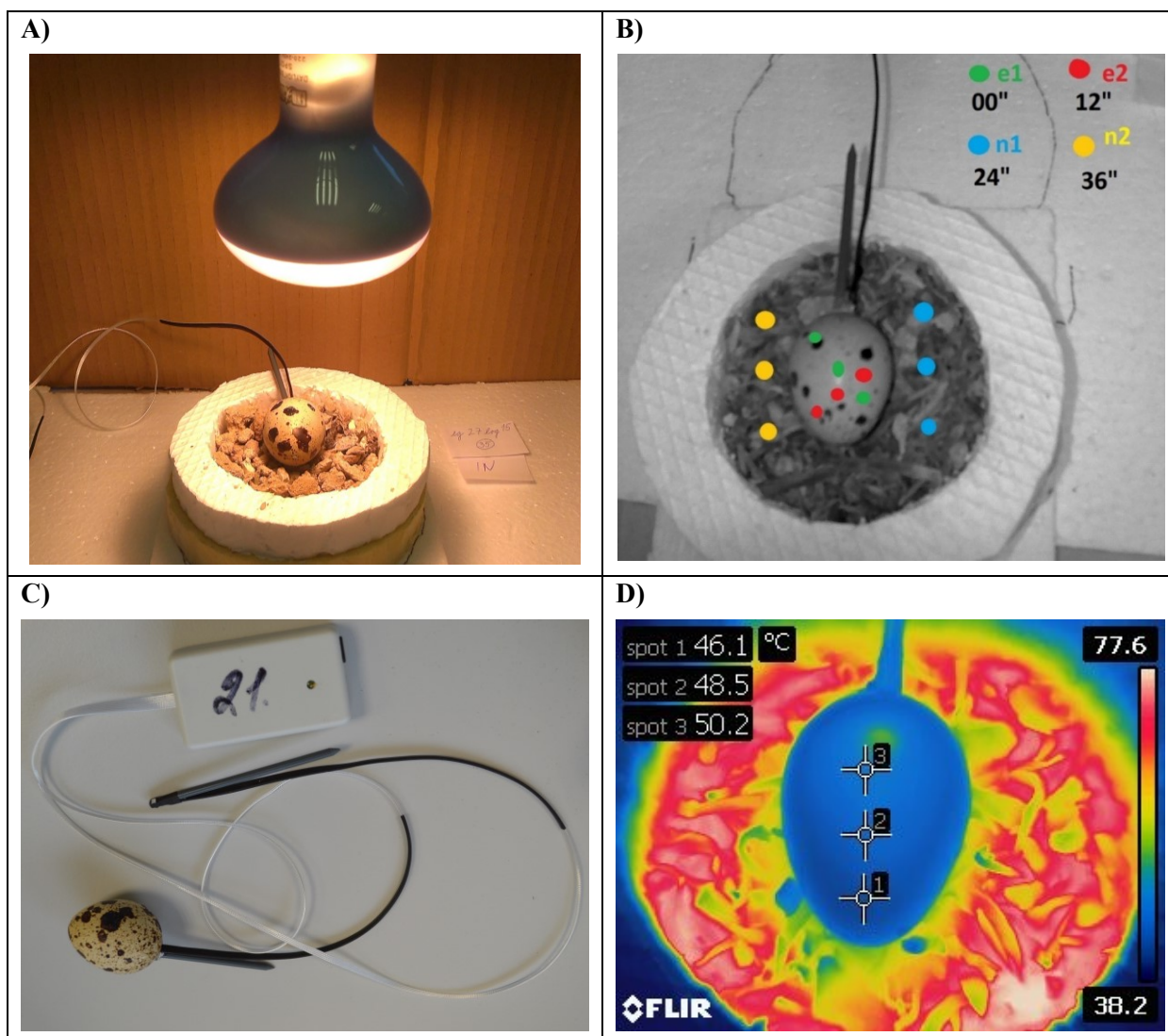
Obr. 3: Variabilita hnízdních výsterek u čejky černoprské. A) hnízdo s minimálním množstvím výstelky složené z klacíků a uhlíků, B) hnízdo s výstelkou složenou z kousků bahna, C) hnízdo s výstelkou složenou z kousků bahna s řasami a klacíků, D) hnízdo s výstelkou složenou převážně z kamínků. Zdroj: L. Pešková.



Veškerý materiál byl odebrán do papírových obálek, popsán (datum, číslo hnízda, typ materiálu – materiál přímo z hnízda/z okolí hnízda) a v případě potřeby vysušen. Poté byl převezen do ČR a uskladněn. Vzhledem k omezeným možnostem přepravy nebyla vždy sebrána kompletní výstelka, ale u hnízd s velmi mohutnou výstelkou byla odebrána pouze její část (50–100 g).

### 3.1.2 Příprava experimentu

Základem pokusu bylo zahřívání vajec na třech různých materiálech sebraných na lokalitě. Pro pokus byla použita komerčně dostupná vejce křepelky japonské (*Coturnix japonica*), jež se z dostupných alternativ svými rozměry nejvíce podobají vejcím čejky černoprsé (průměrné rozměry použitých vajec včetně směrodatné odchylky: *C. japonica* – 35,21 ( $\pm$  1,53) mm x 26,76 ( $\pm$  0,69) mm, váha 13,20 ( $\pm$  1,26) g; průměrné rozměry vajec *V. indicus* v sezóně 2018 – 41,88 ( $\pm$  1,79) mm x 29,51 ( $\pm$  1,35) mm, váha 19,07 ( $\pm$  1,39) g).

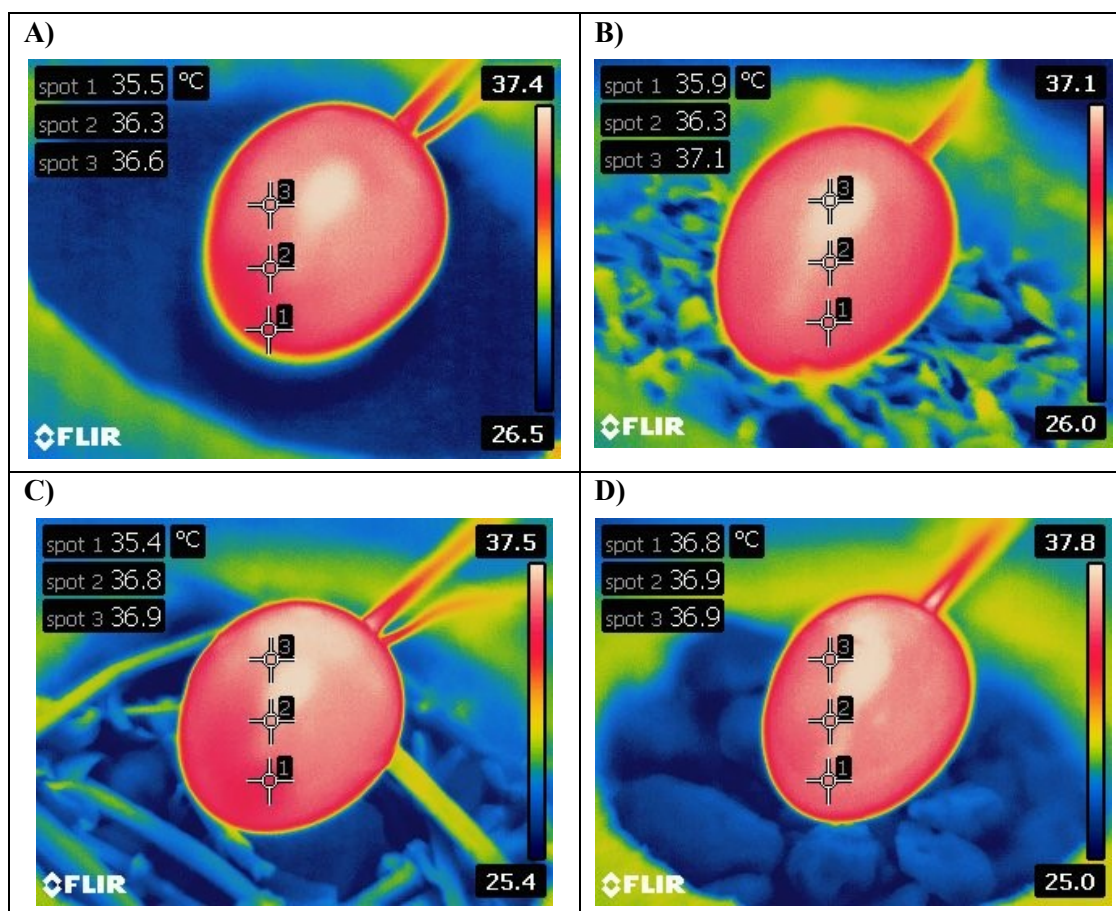


Obr. 4: A) Celkový náhled experimentu, B) Schéma bodů, ze kterých byla postupně odečítána povrchová teplota, C) Křepelčí vejce s umístěným teplotním čidlem a připojeným dataloggerem, D) Snímek s údaji o teplotě povrchu vejce z termokamery. Zdroj: L. Pešková.

Do středu každého vejce bylo vloženo teplotní čidlo připojené k dataloggeru (DHT – datalogger s teplotně vlhkostní sondou) zaznamenávající aktuální teplotu každých 5 vteřin (Obr. 5 C). Čidlo bylo do vejce zavedeno skrze otvor vytvořený jehlou na tupém pólu vejce. Při zavádění čidla byl kladen důraz na minimální pohyb čidla ve vejci, aby byla co nejméně narušena struktura vejce a následně byl otvor ve vejci zalepen vteřinovým lepidlem, tak došlo k definitivní fixaci čidla a k zacelení vzniklého otvoru.

### 3.1.3 Průběh experimentu

Jedno určité vejce bylo vždy asociováno s jedním hnízdem, tedy s materiálem sebraným v hnízdě, ale i s příslušným materiálem dostupným v okolí tohoto hnízda. Pro kontrolu bylo každé z vajec zahříváno i na samotném písku. Všechny tři experimenty s jedním vejcem probíhaly v náhodném pořadí a čase. Tak bylo možné eliminovat vliv vlastností daného vejce, rozdíly v zavedení čidla do vejce (přes veškerou snahu nelze zavést čidlo vždy na přesně stejné místo v každém vejci, také může dojít k posunu sondy při tunutí lepidla) a působení aktuálních podmínek v laboratoři.



Obr. 5: Počátek experimentu s hodnotami teploty povrchu vejce. A) Zahřívání vejce na písku, B) - C) Zahřívání vejce na vzorku s velkým množstvím rostlinného materiálu, D) Zahřívání vejce na vzorku složeném převážně z kamenů. Zdroj: L. Pešková.

Před zahájením pokusu byla vejce zahřáta v inkubátoru, který byl nastaven na teplotu 38 °C a byl spuštěn datalogger s teplotním čidlem ve vejci. Byla vytvořena imitovaná hnízdní kotlinka

z polystyrenu. Z každého vzorku bylo do kotlinky odváženo 50 g materiálu, tak aby byly zastoupeny všechny složky, ze kterých se vzorek skládal. Pokud neměl odebraný vzorek požadovanou hmotnost, tak byl použit celý (celkem v 6 případech z 24). Odměřený materiál měl před pokusem laboratorní teplotu 24 °C a byl umístěn do polystyrenové kotlinky. Tato imitace hnízda byla umístěna pod lampu s výhřevnou bodovou žárovkou (Daylight Basking Spot 100 W, vzdálenost od povrchu hnízda 10 cm – 60 000 lux, cca 50 °C, nejvyšší výkon 600–1200 nm vlnové délky) (Obr. 5 A). V okamžiku, kdy bylo vejce odebráno z inkubátoru a umístěno na imitované hnízdo s odváženým materiálem byla také zapnuta výhřevná lampa a započal experiment.

Vejce bylo umístěno doprostřed simulovaného hnízda a bylo pod lampou zahříváno 10 minut. Během zahřívání byly vejce i výstelka fotografovány termokamerou (Obr. 6 A) – D). Byly pořízeny čtyři snímky během jedné minuty, snímek obsahoval informace o teplotě třech bodů na seřazených do jedné linie. Dvakrát po sobě byla snímána teplota povrchu vejce, celkem 6 bodů za 1 minutu (Obr. 5 B, D) a dvakrát po sobě byla snímána teplota povrchu materiálu, celkem 6 bodů za 1 minutu (Obr. 5 B). Toto bylo opakováno po dobu 10 minut.

Po skončení zahřívání bylo vejce odebráno z výstelky a ponecháno volně při laboratorní teplotě po dobu 5 minut. A poté bylo opět umístěno do inkubátoru a ponecháno do dalšího experimentu.

#### 3.1.4 Složení výstelky

Veškeré testované materiály byly po skončení experimentu ručně roztříděny podle jednotlivých složek, které byly následně zváženy. Podle hmotnosti byl stanoven celkový podíl složky v testovaném vzorku (Příloha 1).

Ve vzorcích byly nalezeny následující složky:

- 1) rostlinná – tzn.: klacíky, stébla, semena, listy, plody
- 2) kameny – menší či větší kameny, které jsou dobře odlišitelné od písku
- 3) ostatní organický materiál – tzn.: trus, peří, bahno s řasami
- 4) materiál, který nebylo možné dále roztřídit, převážně písek

### 3.2 Teplota a otáčení vejce v hnízdě – terénní měření

Protože sběr dat o teplotě a o manipulaci s vejcem v hnízdech pobíhal u obou druhů podle shodné metodiky a bylo k němu využito stejné zařízení, jsou v metodice tyto dvě kapitoly sloučeny dohromady.

#### 3.2.1 Lokalita a cílové druhy

Sběr dat probíhal a na dvou odlišných lokalitách u dvou příbuzných druhů ptáků. Jedním byla čejka chocholátá (*Vanellus vanellus*) a druhým čejka černoprsá (*Vanellus indicus*).

U čejky chocholáté bylo měřící vejce instalováno do hnízd v oblasti jižních Čech – na Písecku a Českobudějovicku (Příloha 2, 3). Lokality v České republice leží na 49° s. š. v mírném podnebném

pásu. Všechna hnízda se nacházela na polích. Celkem byla zpracována data ze 13 hnízd z let 2018 (1 hnízdo) a 2019 (12 hnízd). Bylo nasbíráno 657 hodin (cca 27 dní) záznamu teploty a otáčení vejce v hníždě.

U čejky černoprse bylo měřící vejce instalováno do hnízd na lokalitě Al Qudra Lakes, Al Marmoom Desert Conservation Reserve ve Spojených arabských emirátech (Příloha 4). Lokalita ve Spojených arabských emirátech se nachází na 24° s. š. v subtropickém podnebném pásu. Jedná se o uměle vytvořený komplex sladkovodních jezer o rozloze 3 km<sup>2</sup>. Čejky zde hnízdí na ostrůvcích, v plantážích či dále od vody na písčných dunách. Celkem byla zpracována data ze 14 hnízd z let 2018 (4 hnízda), 2019 (6 hnízd) a 2020 (4 hnízda). Bylo nasbíráno 1157 hodin (cca 48 dní) záznamu teploty a otáčení vejce v hníždě.

### 3.2.2 Měřící vejce a základnová stanice

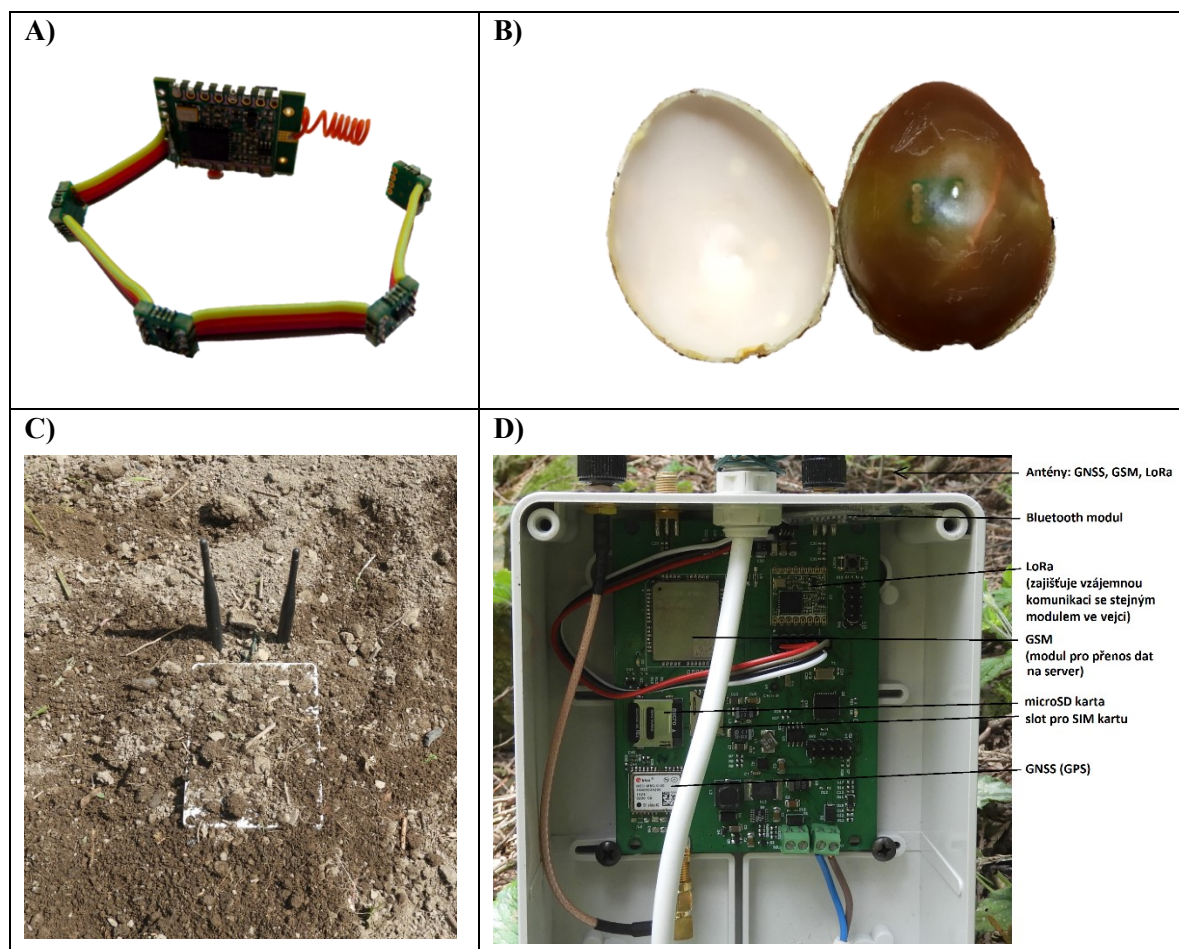
Sběr dat probíhal s využitím dataloggeru instalovaného do umělého vejce. Datalogger obsahoval 4 senzory měřící teplotu (Obr. 7 A). Senzory byly umístěny po obvodu měřícího vejce ve stejných vzdálenostech od sebe navzájem. Dále vejce obsahovalo akcelerometr, měřící dvě osy směru pohybu – osu x (otáčení kolem delší osy vejce) a osu y (otáčení kolem kratší osy vejce). Po připojení baterie byl datalogger umístěn do plastového vejce a po vyrovnání jednotlivých čidel byla elektronika zalita včelím voskem (Obr. 7 B; rozměry vejce: Příloha 5), který má tepelnou vodivost blízkou žloutku a bílku (podobně také Schwartz et al., 1977; Varney and Ellis, 1974). Povrch vejce byl nabarven tak, aby co nejlépe připomínal vejce čejky. Aktuální data z měřícího vejce byla vysílána na základnovou stanici zhruba 1x za 30 vteřin a zaznamenávána na microSD kartu připojenou k základnové desce (Obr. 7 C, D). Díky GNSS (GPS) čipu umístěném na základnové desce byl získáván absolutní čas z družic. Každé hlášení z měřícího vejce bylo tedy označeno vždy přesným časem. Absence záznamu některých hlášení souvisela s občasnými poruchami v příjmu signálu základnovou stanicí. Vedle náhodného rušení jiným signálem mohl být příčinou extrémně utlumený signál při určitém natočení antény uvnitř měřícího vejce. Většinou se jednalo o výpadky jednotlivých měření, což při jejich vysoké četnosti nezpůsobilo zásadní interpretační problémy. Ověřování sběru dat probíhalo přes spojení Bluetooth (či výjimečně přes LTE) se základnovou stanicí. To pomáhalo při kontrole funkčnosti vejce i základnové stanice (ověření stavu baterie vejce i základnové stanice; ověření příjmu signálu z vejce) či zjištění aktivity na hníždě (ověření inkubace kontrolou pohybu vejce a kontrolou rozdílu venkovní teploty a teploty vejce), aniž by byli ptáci na hníždě rušeni. Tato zařízení byla prototypem sestaveným v roce 2018 firmou Anitra v několika kusech (celkem 3 základnové stanice, 5 dataloggerů). Vzhledem ke vzniklým technickým problémům (např.: problém se zápisem dat na microSD kartu) se nepodařilo získat data z minimálně 10 hnízd, kde proběhla instalace.

### 3.2.3 Měření venkovní teploty

Pro měření venkovní teploty během doby, kdy bylo měřící vejce umístěno do hnízda, byly použity dva typy teploměrů: teplotně-vlhkostní datalogger Comet U3631 s externí sondou (COMET SYSTEM, s.r.o.), DHT (teplotně-vlhkostní datalogger se dvěma externími sondami). Data o venkovní teplotě byla



sbírána 1 x za 1 minutu. K jednomu z hnízd čejky chocholaté bylo nutné chybějící hodnoty o venkovní teplotě doplnit z dat meteostanice Českého hydrometeorologického ústavu České Budějovice (<http://portal.chmi.cz/>).



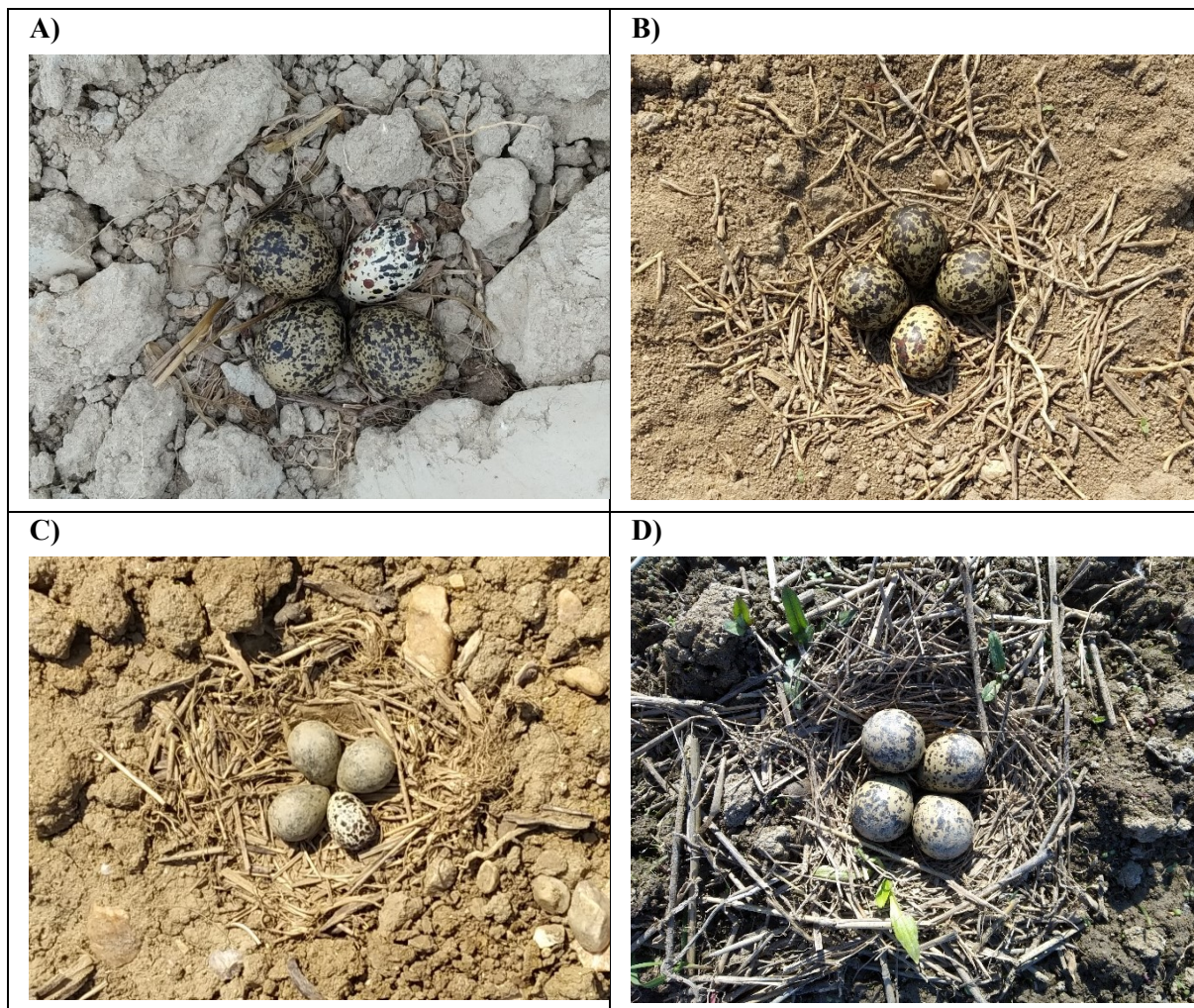
Obr. 6: A) Datalogger se čtyřmi teplotními čidly, B) Umístění dataloggeru v umělém vejci vyplněném voskem, C) Instalace základnové stanice v terénu, D) Popis jednotlivých částí základnové stanice. Zdroj: L. Pešková.

### 3.2.4 Instalace vejce do hnízda

Před instalací měřicího vejce do hnízda bylo pomocí vodního testu stanoveno nasezení snůšky (viz podkapitola 3.2.7 Den aktuálního nasezení). Pro instalaci umělého vejce byla vybrána převážně hnízda se čtyřmi vejci, pouze v pěti případech bylo měřící vejce umístěno jako čtvrté vejce do původně trívaječné snůšky (podobně i Clatterbuck et al., 2017). Z hnízd se čtyřmi vejci bylo jedno z vajec odebráno a nahrazeno měřícím vejcem (Obr. 8 A, B, C). Odebrané vejce bylo po dobu experimentu umístěno do inkubátoru nebo do některého z hnízd daného druhu v okolí. Základnová stanice byla ukryta maximálně do 15 metrů od hnízda tak, aby nedošlo k rušení inkubujících ptáků novým prvkem či k přilákání predátorů. Podle možností byla základnová stanice připevněna na strom či částečně zahrabána pod zem. Datalogger zaznamenávající venkovní teplotu byl umístěn do 1 metru od hnízda, teplotní čidlo bylo zafixováno v úrovni terénu (vajec). Před odchodem byla zdokumentována výstelka



hnízda a zapsán přesný čas odchodu (pro pozdější očištění dat). Sběr dat probíhal bez dalších návštěv hnízda kontinuálně nejčastěji 48–72 hodin. V jednom z hnízd čejky černoprsé bylo měřicí vejce ponecháno kontinuálně 16 dní (405 hodin). Po této době byla opět provedena flotace vajec, pravé vejce bylo umístěno zpět do hnízda a veškeré přístroje byly z okolí hnízda odebrány.



Obr. 7: Variabilita ve velikosti výstelky u čejky chocholaté. A) Minimální výstelka, B) středně velká výstelka C) velká výstelka, D) velká výstelka ve vlhkém prostředí. Na snímcích A), B) a C) je vidět přidané experimentální vejce. Zdroj: L. Pešková.

### 3.2.5 Hodnocení výstelky

Všechny výstelky studovaných hnízd čejky chocholaté se skládaly převážně z rostlinných zbytků – kousků slámy, popř. malých větviček, proto byl stanoven pouze objem výstelky, který byl vyhodnocen z fotografií hnízd. Následně byla hnízda rozřazena do čtyř kategorií (Obr. 8).

- 1) Malá – žádná nebo malá výstelka (Obr. 8 A)
- 2) Střední – středně velká výstelka (Obr. 8 B)
- 3) Velká – mohutná výstelka Obr. 8 C)
- 4) Velká vlhko – mohutná výstelka ve vlhkém prostředí – podmáčené pole (Obr. 8 D)

Kategorie „Velká vlhko“ obsahovala pouze jedno hnízdo. Mikroklima v tomto hnízdě bylo natolik odlišné od ostatních, že bylo nutné vytvořit pro něj samostatnou kategorii. Vynechání tohoto hnízda při analýze dat nevedlo k významné změně výsledků, bylo v datech ponecháno.

Na základě výsledků z předchozího laboratorního experimentu s výstelkami byl stanoven podíl kamenů v každé výstelce u čejky černoprsé.

- 1) Žádné kameny
- 2) Minimální množství kamenů (méně než 40 % kamenů)
- 3) Větší množství kamenů (40–80 % kamenů)
- 4) Výstelka složená pouze z kamenů

### 3.2.6 Stanovení dne a noci

Na základě dat o západu a východu slunce bylo každých 24 hodin sběru dat rozděleno na dvě části – den (od východu do západu slunce) a noc (od západu do východu slunce). Data pro obě lokality byla převzata ze sunrise-and-sunset.com (2018–2020). Průměrná délka dne byla u čejky chocholaté: 14 hodin 19 minut a u čejky černoprsé: 12 hodin 44 minut.

### 3.2.7 Den aktuálního nasezení

Pomocí vodního testu (detailně popsáno v Paassen et al., 1984) byl odhadnut den počátku inkubace snůšky a den aktuálního stádia nasezení. Měření spočívá ve flotaci vejce, tedy umístění vejce na několik vteřin do vody a odečtení jeho sklonu a výšky, ve které se nachází. Určování stáří embrya pomocí flotace je založeno na změně proporcí vzduchové bubliny vznikající mezi dvěma membránami na tupém pólu vejce. Ve srovnání s jinými používanými způsoby určování stáří embrya, sledováním úbytku váhy či prosvěcováním, se jeví jako nejefektivnější a nejspolehlivější napříč všemi stádii inkubace a u všech ptáčích druhů (Westerskov, 1950). Reálné stáří embrya se může od hodnoty stanovené pomocí vodního testu lišit o  $\pm 2$  dny (pro druhy ptáků s délkou inkubace  $\sim 25$  dní, Paassen et al., 1984; Ackerman and Eagles-Smith, 2010). Bylo prokázáno, že tato manipulace s vejci nemá negativní vliv na jejich líhnivost (Paassen et al., 1984; Alberico, 1995).

Po kontrole dat před začátkem analýzy byla vyjmuta proměnná určující stadium inkubace vajec. Pro některé dny nasezení byla k dispozici pouze data z jednoho hnízda. Navíc se při vizualizaci dat žádné rozdíly teploty v závislosti na stáří embrya neprojevíly (Příloha 6, 7).

### 3.2.8 Osud snůšky – líhnivost

Vzhledem k nízké úspěšnosti hnízdění čejky chocholaté na Českobudějovicku (především z důvodu vysoké predace hnízd, Kubelka et al., 2018), nebylo možné vyhodnotit vliv naměřených inkubačních podmínek na líhnivost vajec. Přestože je na lokalitě Al Marmoom nižší predace, tak v roce 2018 dvě ze čtyř hnízd predaci podlehl. V roce 2019 se všech šest hnízd alespoň částečně vylíhlo. Vzhledem

k výpadku terénních prací na jaře 2020 nebylo možné zjistit líhnivost u hnízd měřených v tomto roce. Z těchto důvodů nemohla být líhnivost v závislosti na naměřených podmínkách inkubace testována. Z dat byla vyjmuta hnízda, která podlehlá predaci během sběru dat (dvě hnízda).

### 3.3 Zpracování dat

Pro statistické zpracování dat byl použit program R verze 3.6.2 (R Core Team, 2019). Hladina významnosti  $p$  byla stanovena na 0,05. Pro analýzu vlivu jednotlivých typů materiálu (i složení samotné výstelky) na teplotu ve vejci byl použit zobecněný lineární model s náhodným efektem hnízda (GLM) pomocí funkce 'glm'. Pro analýzu faktorů ovlivňujících teplotu ve vejci a režim otáčení byl použit smíšený model s náhodným efektem hnízda (LMER) pomocí funkce 'lmer' z knihovny 'lme4'. Rozdíly v zahřívání jednotlivých materiálů byly zjišťovány pomocí Tukey HSD testu.

Před zpracováním a vyhodnocením dat získaných z měřicího vejce byly odstraněny hodnoty naměřené během doby, kdy probíhala instalace vejce a ostatního příslušenství do hnízda a také následujících 10 minut po odchodu od hnízda. Z dat ze čtyř teplotních senzorů ve vejci byla pro většinu analýz vypočtena průměrná hodnota ze všech čtyř údajů, dále byla určena minimální a maximální teplota z hodnot naměřených těmito čtyřmi senzory ve stejný čas, která reprezentovala teplotní gradient mezi horní zahřívanou částí a spodní ochlazovanou částí vejce.

Bylo testováno, jaký vliv má venkovní teplota (kontinuální proměnná), den a noc (binární proměnná), výstelka (semikvantitativní proměnná) a denní rytmicita, na teplotu ve vejci. Pro hodnocení denní rytmicity byl čas jednotlivých měření převeden na úhlovou rychlost v radiánech ( $2\pi \times \text{čas} / \text{zájmová perioda}$  12 nebo 24 hod, dle Bulla et al., 2016) a následně byl pro každý časový údaj vypočten sinus a cosinus. Pokud byl test pro sinus i cosinus průkazný, byla za průkaznou považována denní rytmicita průměrných, minimálních či maximálních teplot naměřených ve vejci (podobně také Gee et al., 1995). Při srovnávání obou druhů čejek byl navíc do modelu zahrnut pevný efekt druhu včetně interakcí. Vliv venkovní teploty na teplotu ve vejci byl hodnocen pomocí lineární regrese.

Pro zjednodušení byly do analýzy otáčení vejce zahrnuty pouze údaje o otáčení vejce kolem delší osy (osy  $x$ ). Z dat byly též odstraněny hodnoty jednotlivých otočení menší než  $4^\circ$  a dále byla použita data z jednotlivých manipulací větších  $\geq 5^\circ$  a  $\geq 10^\circ$ . Do analýz byly následně zahrnuty změny pozice vejce o  $\geq 10^\circ$  (podle Shaffer et al., 2014), neboť k pohybu vejce o  $5^\circ - 10^\circ$  docházelo velmi často a pravděpodobně to nesouvisí s cíleným otáčením. V souvislosti s otáčením byly použity dvě proměnné i) manipulace – záznam o manipulaci s vejcem v čase o úhel  $\geq 10^\circ$  bez ohledu velikost otočky (ano/ne), ii) velikost úhlu – úhel, o který bylo vejce otočeno ( $10^\circ - 180^\circ$ ).

Dále byl testován vliv venkovní teploty, výstelky, dne a noci na to, zda bylo s vejcem manipulováno a o jaký úhel bylo vejce otočeno. Také byla zjišťována denní rytmicita (viz výše) otáčení. Dále byla vypočtena průměrná suma manipulací s vejcem za hodinu a také průměrný absolutní úhel otočení za hodinu (tedy součet úhlů otočení bez ohledu na stranu do které bylo vejce otočeno), aby bylo možné porovnat zjištěné hodnoty s ostatními studiemi.

Vliv jednotlivých proměnných na manipulaci s vejcem byl zjišťován rovněž pomocí lineárního smíšeného modelu (LMER). Vždy byl do modelu zahrnut náhodný efekt hnízda. Při srovnávání obou druhů čejek byl navíc do modelu zahrnut pevný efekt druhu včetně interakcí.



## 4 VÝSLEDKY

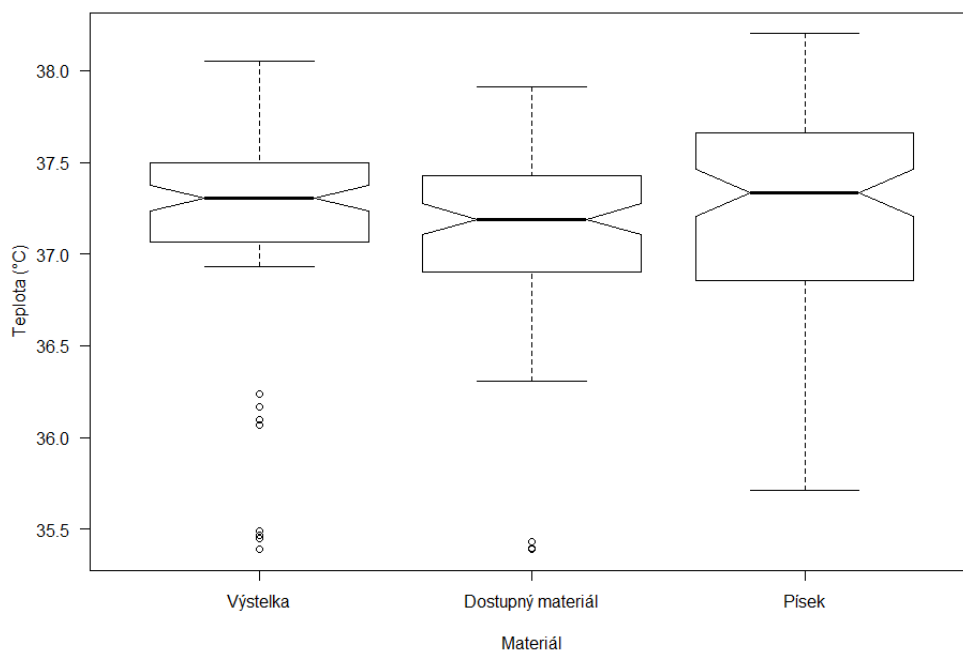
### 4.1 Vliv výstelky na teplotu vejce – laboratorní experiment

#### 4.1.1. Vliv substrátu na teplotu uvnitř vejce

Celkem byl sebrán materiál z 24 hnízd s vlastní výstelkou hnízda, dále bylo odebráno 24 vzorků z okolí jednotlivých hnízd a pro kontrolu samotný písek z dané lokality. Z 24 hnízd bylo úspěšně vyvedených (vylíhnutých) 23 hnízd a 1 podlehl predaci. Data z predovaného hnízda neovlivnila výrazně výsledek testů. Celkem bylo testováno 72 vzorků materiálu.

#### Teplota uvnitř vejce na počátku experimentu

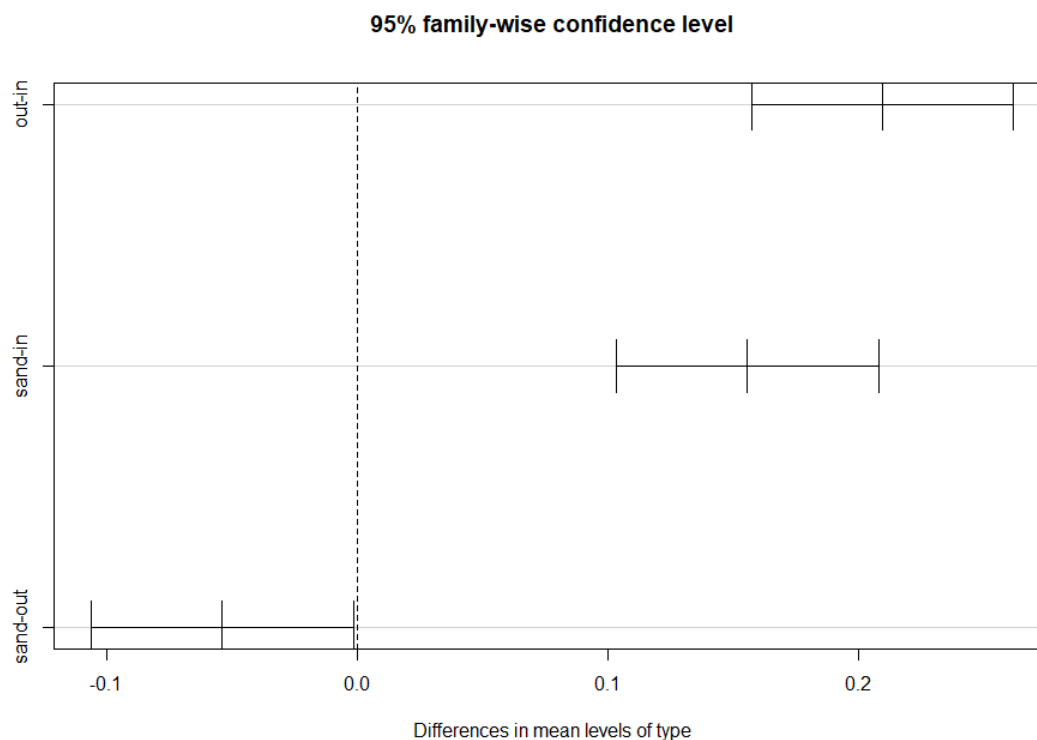
Při srovnání vnitřní teploty vajec na počátku měření (1. – 3. měření od počátku experimentu) u všech materiálů nevykazovala teplota vejce na jednotlivých materiálech statisticky průkazný rozdíl (LMER:  $N = 288$ ;  $\chi^2 = 5,68$ ;  $Df = 2$ ;  $p = 0,0583$ ), Obr. 9. Průměrná teplota ve vejci na počátku pokusu byla  $37,23\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Písek =  $37,32\text{ }^{\circ}\text{C}$ , Dostupný materiál =  $37,12\text{ }^{\circ}\text{C}$ , Výstelka =  $37,24\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).



Obr. 8: Srovnání teplot uvnitř vajec na počátku experimentu při zahřívání na jednotlivých materiálech. Písek = teplota vejce při zahřívání na písku bez jakékoliv příměsi, Dostupný materiál = teplota vejce na materiálu, který byl sebrán z okolí daného hnízda a byl tedy pravděpodobně dostupný pro zabudování do výstelky, Výstelka = teplota vejce na materiálu, který byl sebrán z hnízda po ukončení hnízdního pokusu. Graf vymezuje medián (tučná horizontální čára), horní a dolní kvartil (box), 25% a 75% kvantil minus nebo plus  $1,5 \times$  mezikvartilové rozpětí (popř. minimum a maximum, pokud představovaly menší hodnotu) a odlehlé hodnoty (kolečka). Zářezy určují rozmezí pro signifikantní rozdíly mezi mediány.

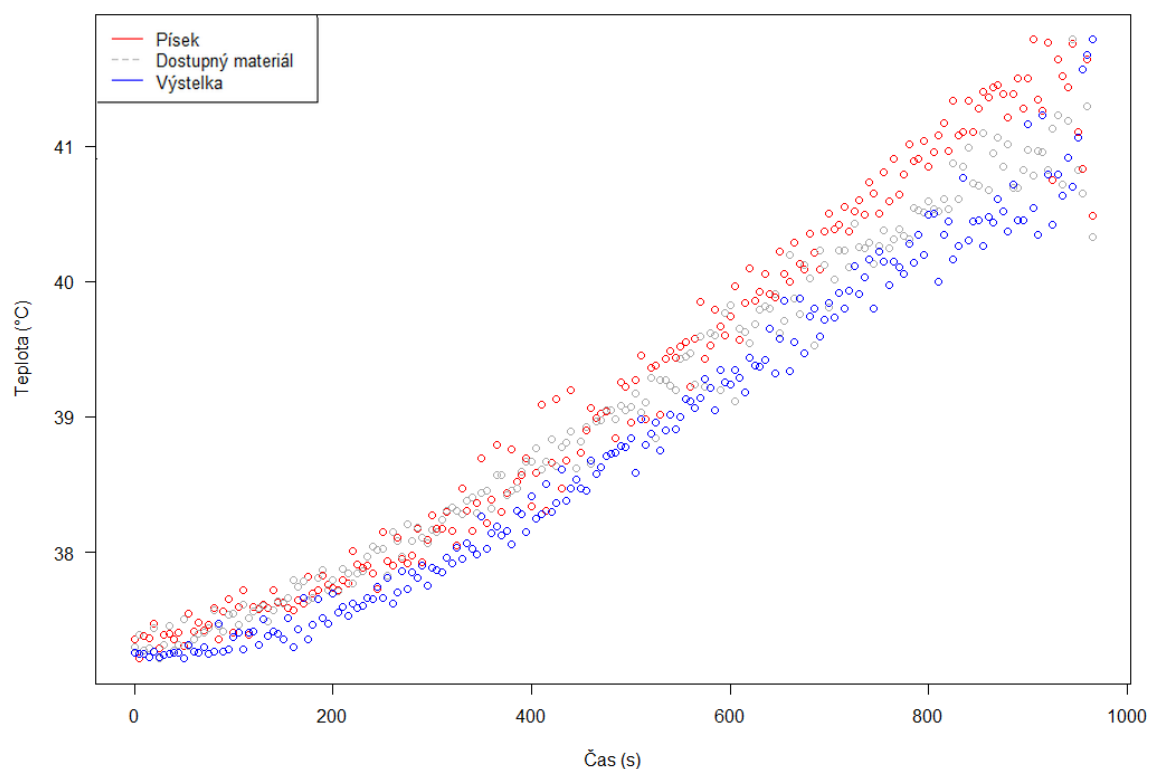
### Teplota uvnitř vejce během experimentu

Růst teploty během celého experimentu (10 minut) závisel na typu materiálu, na kterém bylo vejce zahříváno (GLM:  $N = 360$ ,  $\chi^2 = 63,23$ ,  $Df = 2$ ,  $p < 0,001$ ). Statisticky průkazný rozdíl byl mezi všemi třemi typy materiálů. Největší rozdíl byl mezi dostupným materiálem z okolí a výstelkou (Tukey HSD test:  $p < 0,001$ ), dále pak mezi pískem a výstelkovým materiálem (Tukey HSD test:  $p < 0,001$ ), naopak menší rozdíl byl mezi materiálem z okolí a pískem (Tukey HSD test:  $p = 0,0411$ ), Obr. 10.



Obr. 9: Výsledek Tukey HSD testu. Sand = písek, out = materiál z okolí hnízda, in = výstelkový materiál.

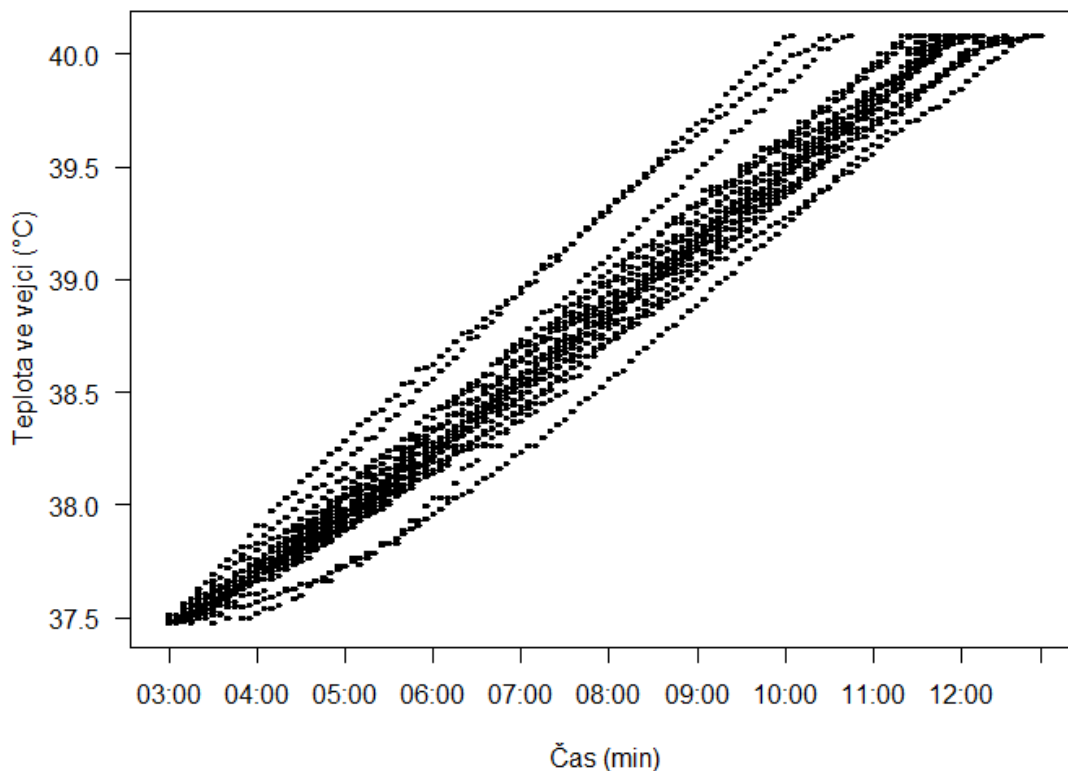
Po dobu 10 minut zahřívání teplota uvnitř vejce rostla v čase u všech zkoumaných materiálů. Teplota narůstala zprvu pomaleji, později rychleji u všech tří typů materiálu (Obr. 11). Tento nárůst byl ovšem nejrychlejší u vajec položených na písku, a naopak nejpomalejší u vajec položených na samotné výstelce.



Obr. 10: Průběh teploty ve vejci během zahřívání pod lampou. Písek = teplota vejce při zahřívání na písku bez jakékoliv příměsi, Dostupný materiál = teplota vejce na materiálu, který byl sebrán z okolí daného hnízda a byl tedy pravděpodobně. dostupný pro zabudování do výstelky, Výstelka = teplota vejce na materiálu, který byl sebrán z hnízda po ukončení hnízdního pokusu.

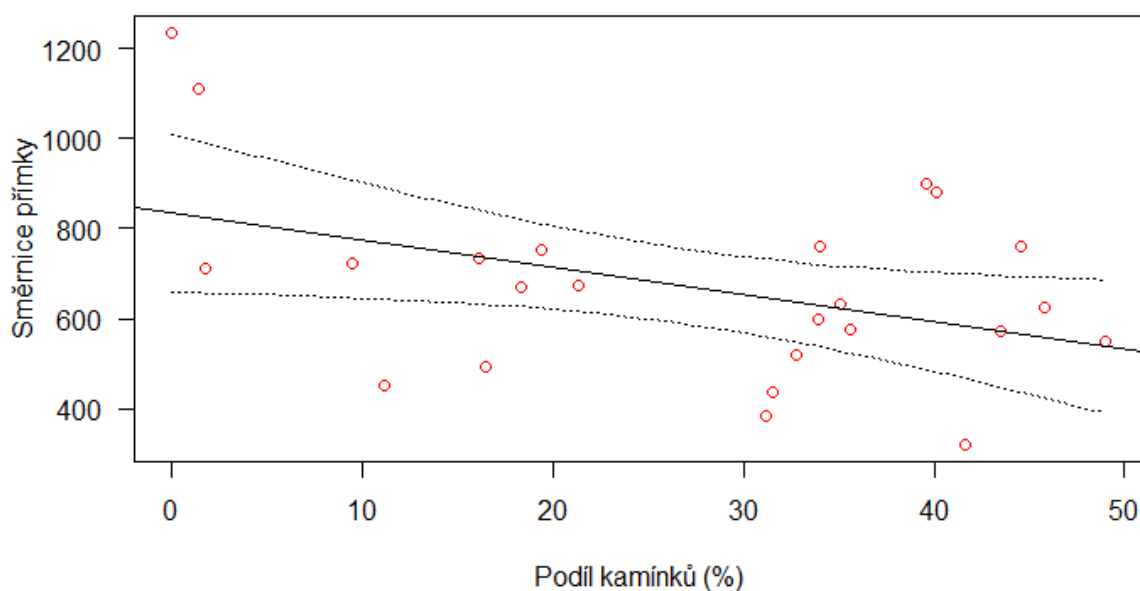
#### 4.1.2 Efekt složení výstelky na teplotu uvnitř vejce

Dále byly testovány jen výstelky z hnízd. Průběh teploty ve vejci na výstelce ukazoval podobný vývoj teploty během experimentu u všech hnízd, avšak s určitou variabilitou rychlosti přírůstku teploty (Obr. 12).



Obr. 11: Průběh teploty ve vejci v čase během zahřívání vajec na jednotlivých výstelkách sebraných z hnízd.

K vysvětlení variability směrnice přímky (slope) nejvýrazněji přispěl podíl kamenů ve výstelce (GLM:  $N = 24$ ;  $Df = 1$ ;  $F = 8,21$ ;  $p = 0,0096$ ) minimálně naopak přispěl podíl rostlinné (GLM:  $N = 24$ ;  $Df = 1$ ;  $F = 0,33$ ;  $p = 0,5732$ ) a organické složky (GLM:  $N = 24$ ;  $Df = 1$ ;  $F = 1,50$ ;  $p = 0,2342$ ).



Obr. 12: Růst teploty ve vejci během zahřívání na výstelce z hnízda se zpomaloval s rostoucím podílem kamínků ve výstelce. Přerušované čáry naznačují interval spolehlivosti na 95 % hladině.

Na rychlost zahřívání vejce měl vliv podíl kamenů ve výstelce (kompletní složení výstelek viz Přílohy – Tab. 8). S rostoucím množstvím kamínků ve výstelce klesala směrnice přímky, tj. klesala rychlost růstu vnitřní teploty vejce exponovaného přímému osvětlu (Obr. 13). Tedy čím více bylo kamenů ve výstelce, tím pomaleji rostla teplota vejce.

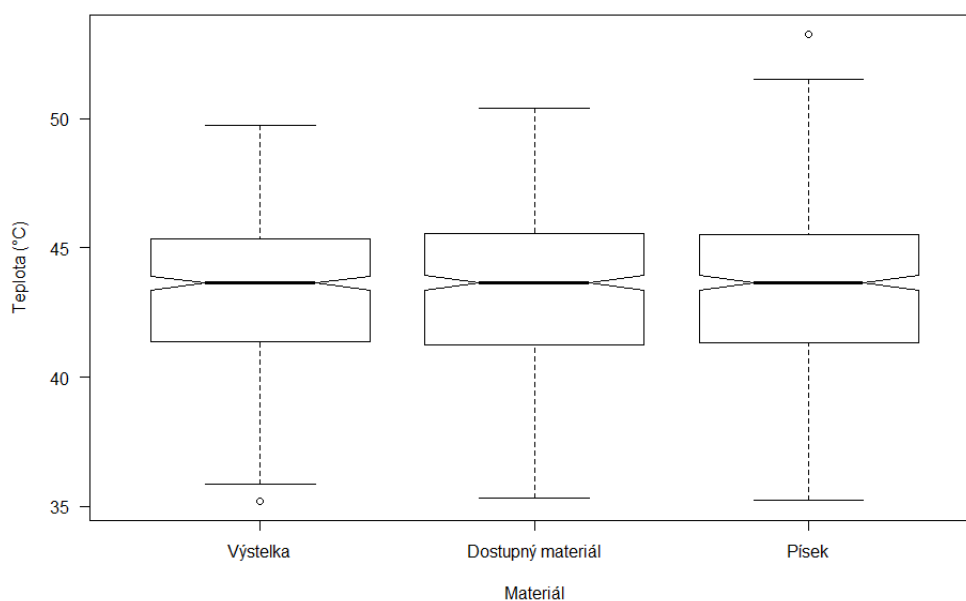
#### 4.1.2 Povrchová teplota vejce a substrátu

Nejmenší rozmezí teplot během experimentu bylo naměřeno uvnitř vejce, největší naopak na povrchu materiálu, na kterém bylo vejce zahříváno (Tab. 1).

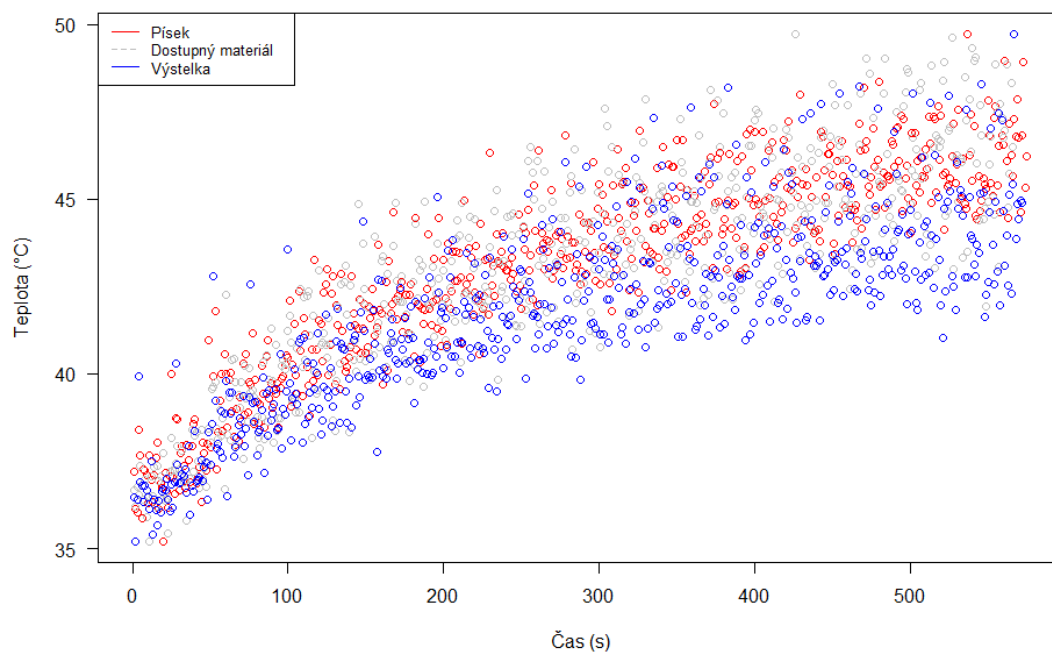
Tab. 1: Teploty naměřené při experimentu uvnitř vejce, na povrchu vejce a na povrchu materiálu.

	Uvnitř vejce	Povrch vejce	Povrch materiálu
Minimální teplota (°C)	35,37	34,90	25,00
Průměrná teplota $\pm$ SD (°C)	39,18 $\pm$ 1,85	43,30 $\pm$ 3,91	48,16 $\pm$ 9,94
Maximální teplota (°C)	46,02	56,00	85,20

Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v teplotě povrchu vejce zahřívajícího na různých typech materiálu (LM: N = 1713; Df = 2; F = 1,59; p = 0,2033), Obr. 14 a Obr. 15.

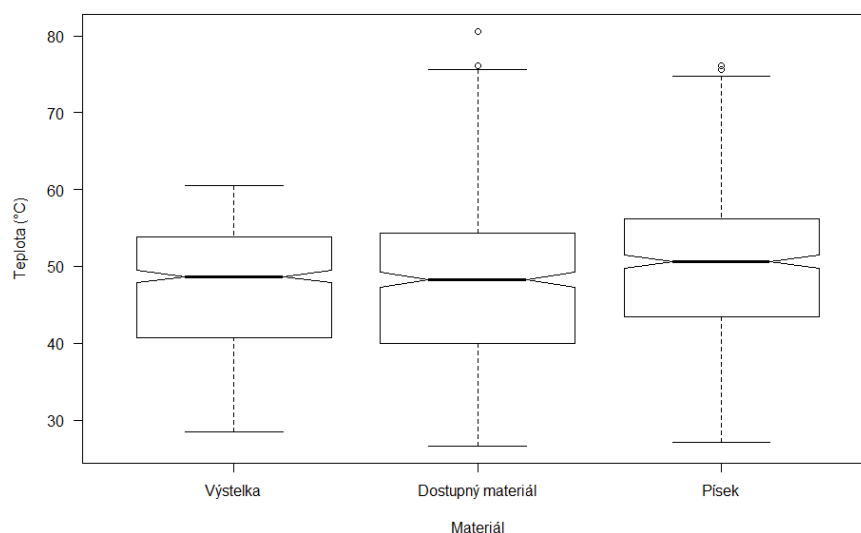


Obr. 13: Teplota na povrchu vejce během experimentu při zahřívání na různých typech materiálu. Písek = teplota povrchu vejce při zahřívání na písku bez jakékoliv příměsi, Dostupný materiál = teplota povrchu vejce při zahřívání na materiálu, který byl sebrán z okolí daného hnízda a byl tedy pravděpodobně dostupný pro zabudování do výstelky, Výstelka = teplota povrchu vejce při zahřívání na materiálu, který byl sebrán z hnízda po ukončení hnízdního pokusu. Graf vymezuje medián (tučná horizontální čára), horní a dolní kvartil (box), 25% a 75% kvantil mínus nebo plus 1,5x mezikvartilové rozpětí (popř. minimum a maximum, pokud představovaly menší hodnotu) a odlehle hodnoty (kolečka). Zářezy určují rozmezí pro signifikantní rozdíly mezi mediány.

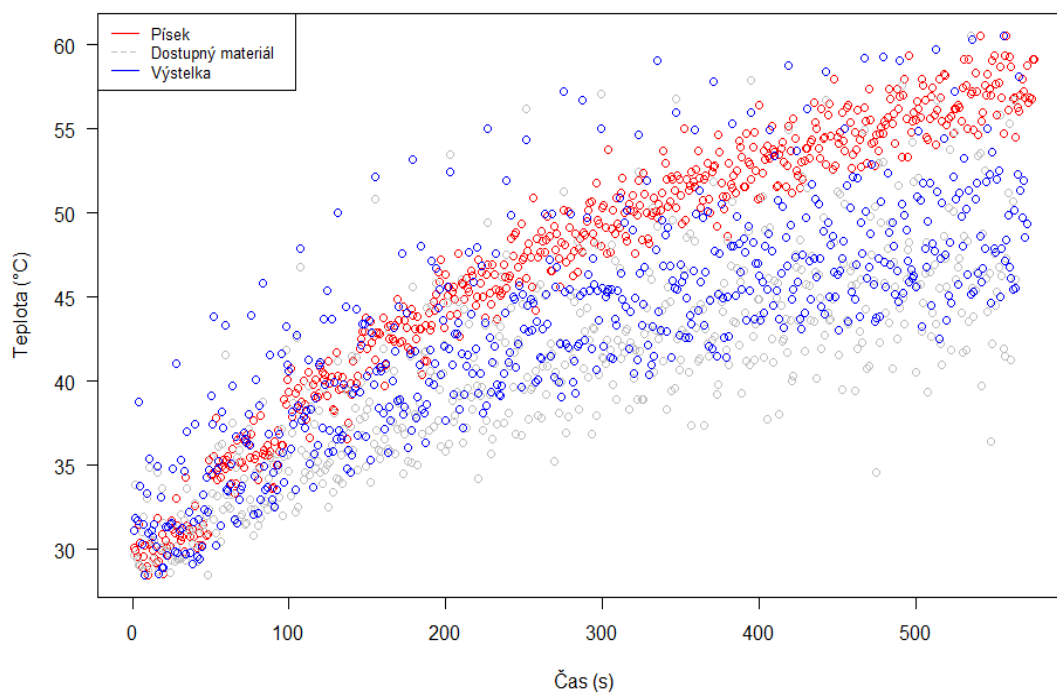


Obr. 14: Průběh povrchové teploty vejce během experimentu na různých typech materiálu. Písek = teplota povrchu vejce při zahřívání na písku bez jakékoliv příměsi, Dostupný materiál = teplota povrchu vejce na materiálu, který byl sebrán z okolí daného hnízda a byl tedy pravděpodobně dostupný pro zabudování do výstelky, Výstelka = teplota povrchu vejce na materiálu, který byl sebrán z hnízda po ukončení hnízdního pokusu.

Avšak byl prokázán statisticky významný rozdíl při zahřívání mezi povrchovými teplotami jednotlivých materiálů (LM:  $N = 1711$ ,  $Df = 2$ ,  $F = 14,02$ ,  $p < 0,001$ ), Obr. 16 a Obr. 17.

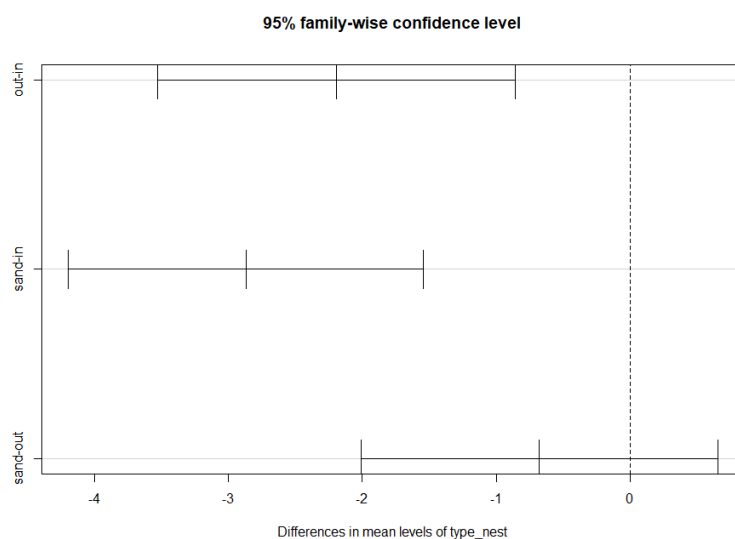


Obr. 15: Teplota na povrchu třech typů materiálu během experimentu. Písek = teplota povrchu písku bez příměsi, Dostupný materiál = teplota povrchu materiálu, který byl sebrán z okolí daného hnízda a byl tedy pravděpodobně dostupný pro zabudování do výstelky, Výstelka = teplota povrchu materiálu, který byl sebrán z hnízda po ukončení hnízdního pokusu. Graf vymezuje medián (tučná horizontální čára), horní a dolní kvartil (box), 25% a 75% kvantil mínus nebo plus 1,5x mezikvartilové rozpětí (popř. minimum a maximum, pokud představovaly menší hodnotu) a odlehlé hodnoty (kolečka). Zářezy určují rozmezí pro signifikantní rozdíly mezi mediány.



Obr. 16: Průběh povrchové teploty materiálu během experimentu. Písek = materiál bez jakékoliv příměsi, Dostupný materiál = materiál, který byl sebrán z okolí daného hnízda a byl pravděpodobně dostupný pro zabudování do výstelky, Výstelka = materiál, který byl sebrán z hnízda po ukončení hnízdního pokusu.

Byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl povrchové teploty pouze mezi dvěma typy materiálu. Nejvíce se lišila povrchová teplota písku a výstelkového materiálu (Tukey HSD test:  $p < 0,001$ ). Dále byl zjištěn průkazný rozdíl mezi dostupným materiálem z okolí a výstelkou (Tukey HSD test:  $p < 0,001$ ), naopak nebyl průkazný rozdíl mezi povrchovou teplotou materiálu z okolí a pískem (Tukey HSD test:  $p = 0,4554$ ), Obr. 18. Povrchové teploty písku během pokusu zůstávaly velmi podobné. Teplota výstelkového materiálu rostla spíše pomaleji, především ve srovnání s pískem (Obr. 17).

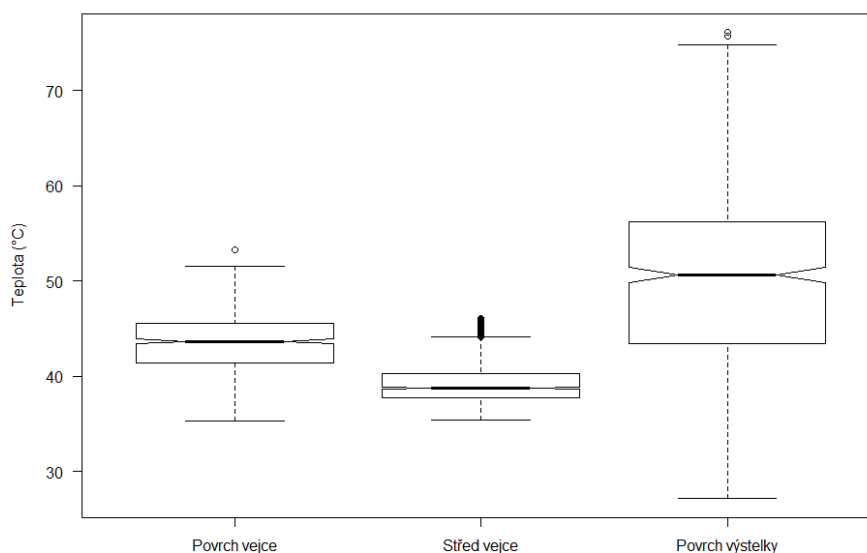


Obr. 17: Výsledek Tukey HSD testu. Sand = teplota povrchu písku bez jakékoliv příměsi, out = teplota povrchu materiálu, který byl sebrán z okolí daného hnízda, in = teplota povrchu materiálu, který byl sebrán z hnízda po ukončení hnízdního pokusu.

#### 4.1.3 Srovnání všech naměřených teplot

Porovnání vnitřní teploty vejce a povrchových teplot skořápky a materiálu ukázalo jejich rozdílné teploty během experimentů. Minimální teploty odpovídají teplotám těsně před začátkem experimentu, vejce bylo vystaveno teplotě 38 °C v inkubátoru a testovaný materiál byl naopak vystaven pokojové teplotě 25 °C. Z grafu (Obr. 19) vyplývá, že teplota uvnitř vejce je relativně konstantní vzhledem k povrchové teplotě výstelky a povrchu skořápky.

I povrch skořápky vykazoval vždy nižší teplotu než povrch substrátu, přestože substrát mohl mít i 55 °C či podstatně více, povrch skořápky vykazoval poměrně konzistentně teplotu do 45 °C bez ohledu na substrát.



Obr. 18: Naměřené teploty při zahřívání vejce na hnízdní výstelce. Povrch vejce – odečten z hodnot termokamery, Střed vejce – data z teplotního dataloggeru s čidlem umístěným ve středu vejce, Povrch výstelky – odečten z hodnot z termokamery. Graf vymezuje medián (tučná horizontální čára), horní a dolní kvartil (box), 25% a 75% kvantil minus nebo plus 1,5x mezikvartilové rozpětí (popř. minimum a maximum, pokud představovaly menší hodnotu) a odlehle hodnoty (kolečka). Zářezy určují rozmezí pro signifikantní rozdíly mezi mediány.

## 4.2 Teplota vejce v hníždě – terénní měření

### 4.2.1 Průměrné teploty naměřené během inkubace

Sběr dat z hnízd probíhal u čejky chocholaté vždy v dubnu a květnu 2018, 2019 a u čejky černoprse v březnu až červnu 2018, 2019, 2020. Jak je patrné z tabulky (Tab. 2), průměrné venkovní teploty se na obou lokalitách výrazně lišily (ve dne i v noci) neboť lokality, kde probíhal sběr dat, leží v odlišných



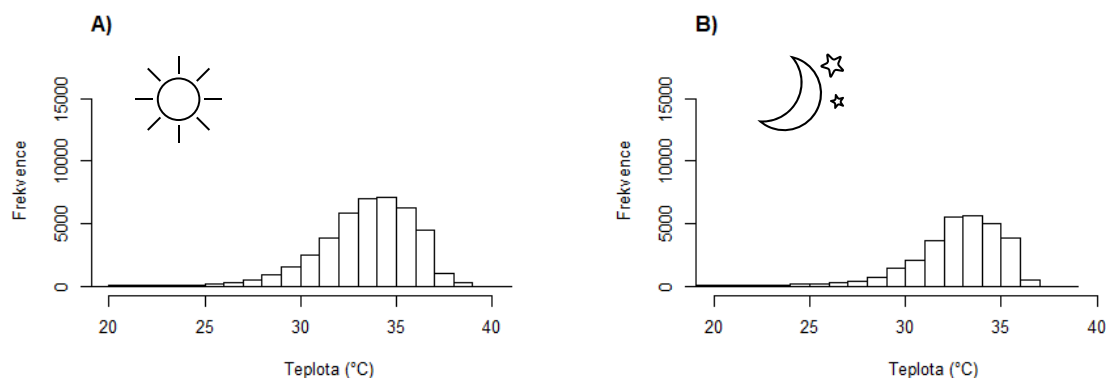
klimatických pásmech. Průměrná denní venkovní teplota u čejky černoprsé se velmi blížila průměrné teplotě naměřené ve vejci.

Tab. 2: Teploty naměřené u čejky chocholaté a č. černoprsé během umístění měřicího vejce v hnízdě. Venkovní teplota je průměrem hodnot naměřených venkovními teploměry umístěnými k jednotlivým hnízdům. U průměrných hodnot je vždy uvedena směrodatná odchylka od průměru (SD).

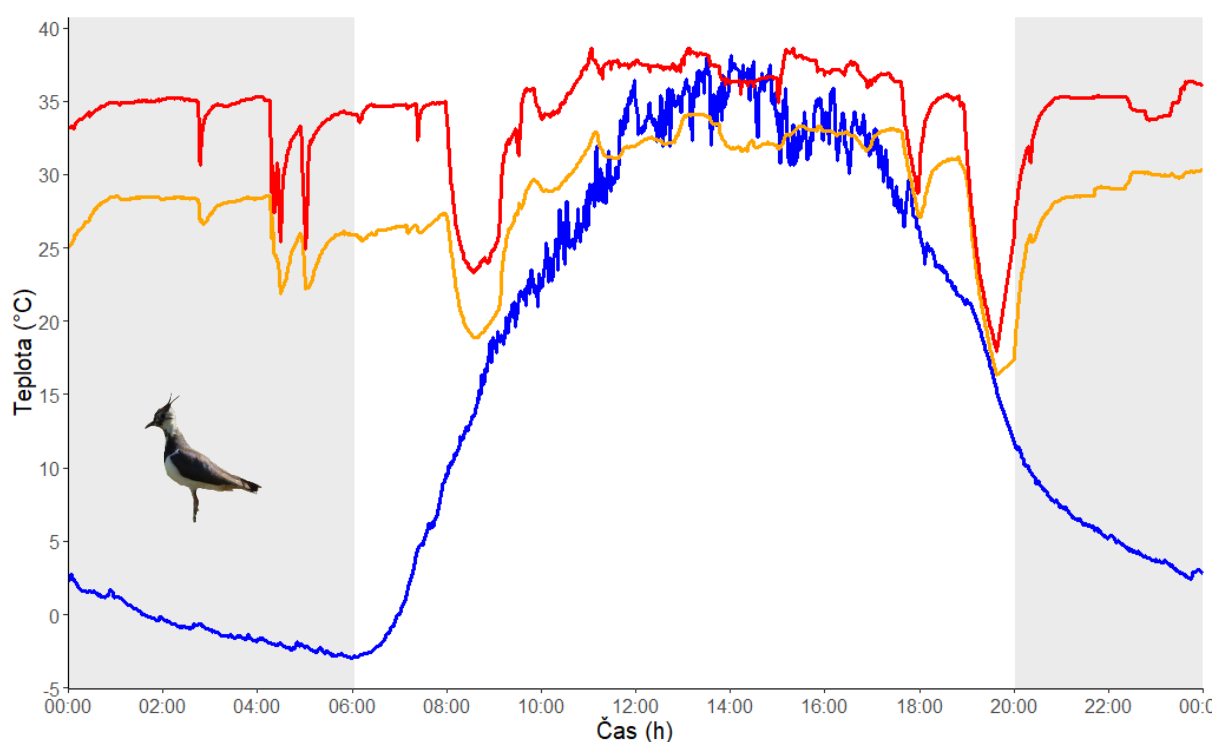
	<i>Vanellus vanellus</i>		<i>Vanellus indicus</i>	
	den	noc	den	noc
Venkovní teplota – průměr ± SD (°C)	19,70 ± 8,48	7,42 ± 4,15	36,64 ± 10,52	22,62 ± 4,61
Venkovní teplota – minimum (°C)	-2,91	-2,98	13,20	12,20
Venkovní teplota – maximum (°C)	39,43	29,00	63,88	34,82
Teplota ve vejci – průměr (°C)	32,84 ± 3,11	32,05 ± 2,95	36,16 ± 2,24	34,2 ± 1,69
Teplota ve vejci – minimum (°C)	13,06	13,80	19,98	21,36
Teplota ve vejci – maximum (°C)	38,64	37,18	47,67	38,00
Průměrný rozdíl teplot uvnitř vejce ± SD (°C)	4,67 ± 2,43	5,72 ± 2,20	2,19 ± 1,60	3,33 ± 1,62
Minimální rozdíl teplot uvnitř vejce (°C)	0,07	0,38	0,00	0,06
Maximální rozdíl teplot uvnitř vejce (°C)	19,56	15,94	10,19	9,25

#### 4.2.2 Teplota ve vejci u čejky chocholaté

Teplota ve vejci se u čejky chocholaté pohybovala ve dne nejčastěji mezi 33–35 °C a v noci mezi 32–34 °C (Obr. 20).



Obr. 19: Četnost teplot naměřených ve vejci během inkubace. A) Denní teploty ve vejci u čejky chocholaté, B) Noční teploty ve vejci u čejky chocholaté.



Obr. 20: Průběh teplot naměřených v hnízdě č. 9 čejky chocholaté, během 20.4.2019, 0:00:00-23:59:59. Oranžová – minimální teplota naměřená ve vejci (odpovídá při inkubaci spodní ochlazované části), červená – maximální teplota naměřená ve vejci (odpovídá při inkubaci zahřívání horní části), modrá – venkovní teplota, šedá oblast – noc, bílá oblast – den. U teplot naměřených ve vejci jsou patrné dvě výrazné přerušení inkubace dopoledne a večer.

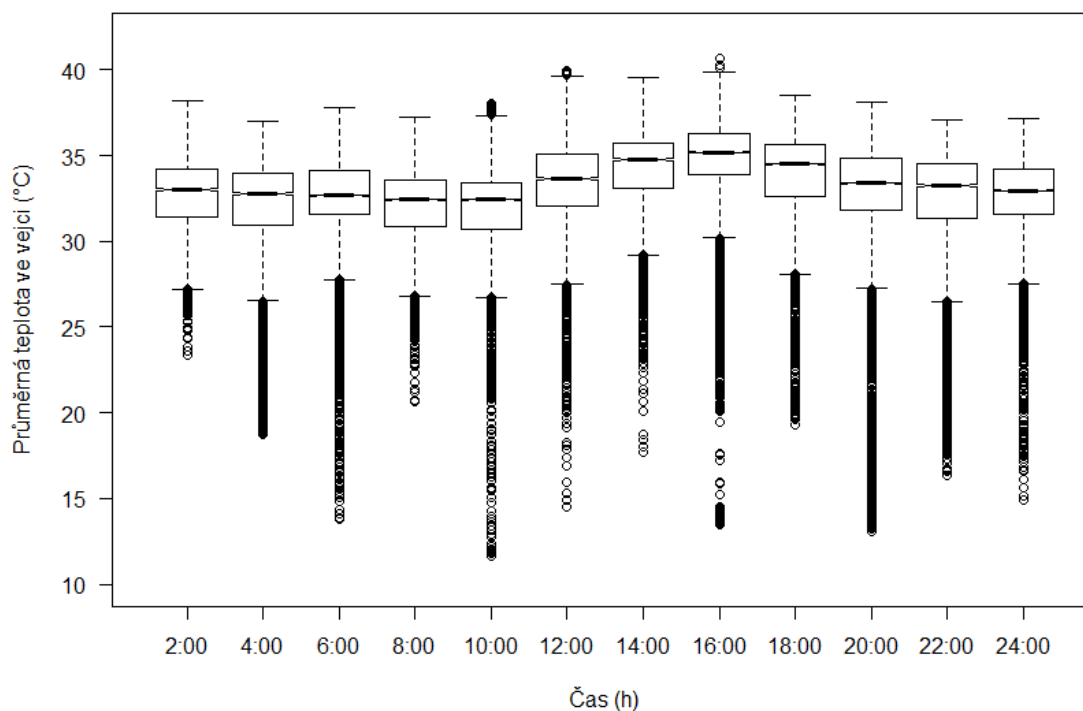
Během měření byla většinu času u čejky chocholaté venkovní teplota výrazně nižší než průměrná teplota ve vejci. Jednotlivé hodnoty naměřené čtyřmi teplotními senzory rozmístěnými po obvodu vejce se lišily v některých částech dne i o 15 °C, jindy byl naopak rozdíl v teplotě ve všech částech vejce menší než 0,5 °C (Obr. 21). Z tohoto důvodu byla analyzována minimální, průměrná i maximální teplota zvlášť.

Tab. 3: Vliv jednotlivých proměnných na minimální, průměrnou a maximální teplotu naměřenou ve vejci u čejky chocholaté. N = 73976 měření, 13 hnízd, s.e. = směrodatná chyba odhadu.

	Proměnná	Estimate ± s.e.	Df	$\chi^2$	p
Maximální teplota ve vejci	Venkovní teplota	- 0,01 ± 0,002	1	15,19	< <b>0,001</b>
	Noc	1,35 ± 0,046	1	868,76	< <b>0,001</b>
	Objem výstelky	Střední: 0,08 ± 0,771 Velká: 1,76 ± 1,020 Velká – vlhko: 0,66 ± 1,290	3	4,75	0,1914
	Denní rytmicita (sin)	- 0,54 ± 0,021	1	654,62	< <b>0,001</b>
	Denní rytmicita (cos)	- 1,31 ± 0,034	1	1457,37	< <b>0,001</b>
Průměrná teplota ve vejci	Venkovní teplota	0,01 ± 0,002	1	17,97	< <b>0,001</b>
	Noc	1,64 ± 0,044	1	1361,55	< <b>0,001</b>
	Objem výstelky	Střední: 0,71 ± 0,678 Velká: 2,65 ± 0,897 Velká – vlhko: 0,69 ± 1,135	3	6,89	0,0755
	Denní rytmicita (sin)	- 0,91 ± 0,021	1	1931,5	< <b>0,001</b>
	Denní rytmicita (cos)	- 1,62 ± 0,033	1	2335,69	< <b>0,001</b>
Minimální teplota ve vejci	Venkovní teplota	0,02 ± 0,002	1	99,8	< <b>0,001</b>
	Noc	1,75 ± 0,044	1	1536,1	< <b>0,001</b>
	Objem výstelky	Střední: 1,53 ± 0,821 Velká: 3,61 ± 1,086 Velká vlhko: 0,95 ± 1,374	3	8,1	<b>0,0437</b>
	Denní rytmicita (sin)	- 1,25 ± 0,021	1	3589,4	< <b>0,001</b>
	Denní rytmicita (cos)	- 1,92 ± 0,033	1	3276,2	< <b>0,001</b>

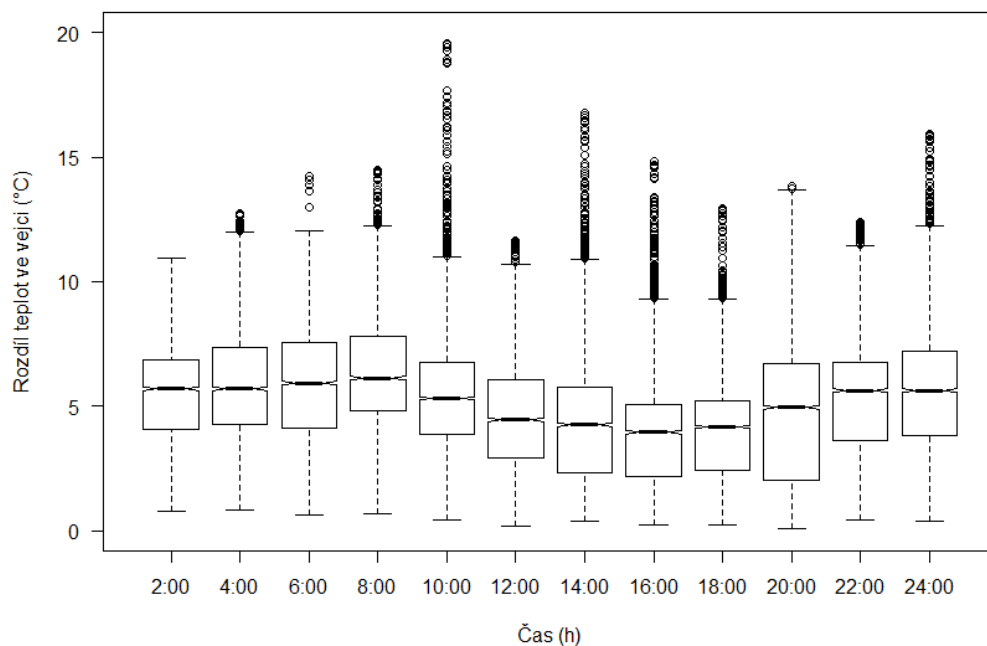
Nejsilnějším prediktorem teploty ve vejci byla denní rytmicita a s tím související rozdíly mezi dnem a nocí (Obr. 22). Dále byla významným prediktorem venkovní teplota, která ovlivňovala nejvíce minimální teplotu naměřenou ve vejci, nejméně pak maximální teplotu naměřenou ve vejci. Vliv

velikosti výstelky byl prokázán pouze na minimální teplotu ve vejci. Nejnižší teplota byla pravděpodobně naměřena vždy na straně vejce, kde dochází právě ke kontaktu s výstelkou. Nejnižší minimální teploty byly naměřeny v hnízdech s nejmenší výstelkou a poté u hnízda s velkou výstelkou ve výrazně podmáčeném prostředí, naopak nejvyšší teplota byla naměřena v hnízdech s největší výstelkou (Obr. 24). Vliv velikosti výstelky na průměrnou a maximální teplotu ve vejci nebyl prokázán. Výsledky modelu testujícího vliv proměnných na teplotu ve vejci jsou shrnuty v tabulce (Tab. 3).

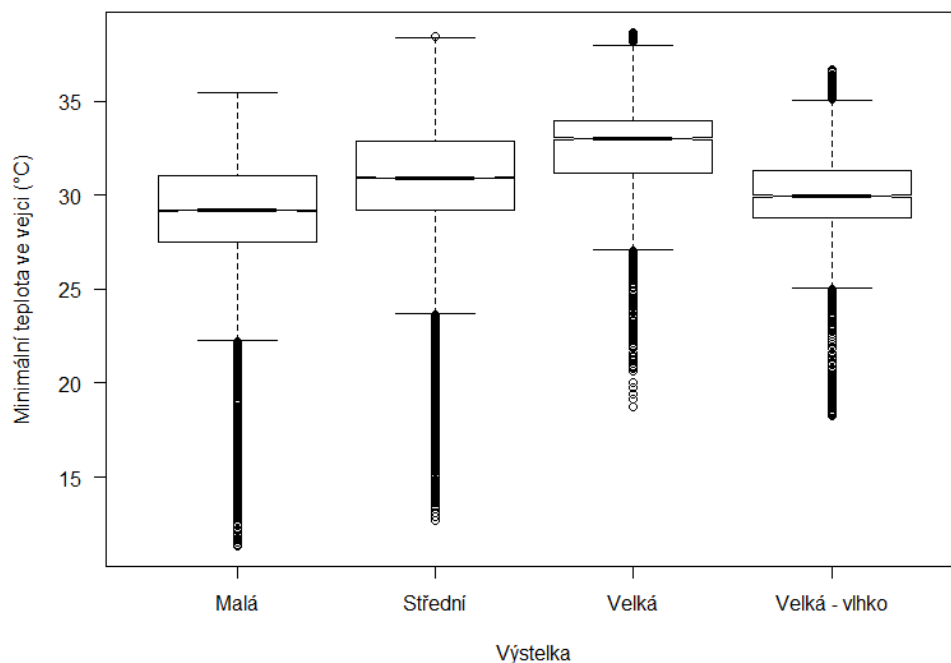


Obr. 21: Průběh průměrné teploty ve vejci během dne u čejky chocholaté. Graf vymezuje medián (tučná horizontální čára), horní a dolní kvartil (box), 25% a 75% kvantil minus nebo plus 1,5x mezikvartilové rozpětí (popř. minimum a maximum, pokud představovaly menší hodnotu) a odlehlé hodnoty (kolečka). Zářezy určují rozmezí pro signifikantní rozdíly mezi mediány.

Rozdíl mezi minimální a maximální teplotou ve vejci byl během dne nejnižší mezi 12.–18. hodinou a nejvyšší mezi 4.–8. hodinou ranní (Obr. 23). V průměru se teploty lišily o 5 °C.

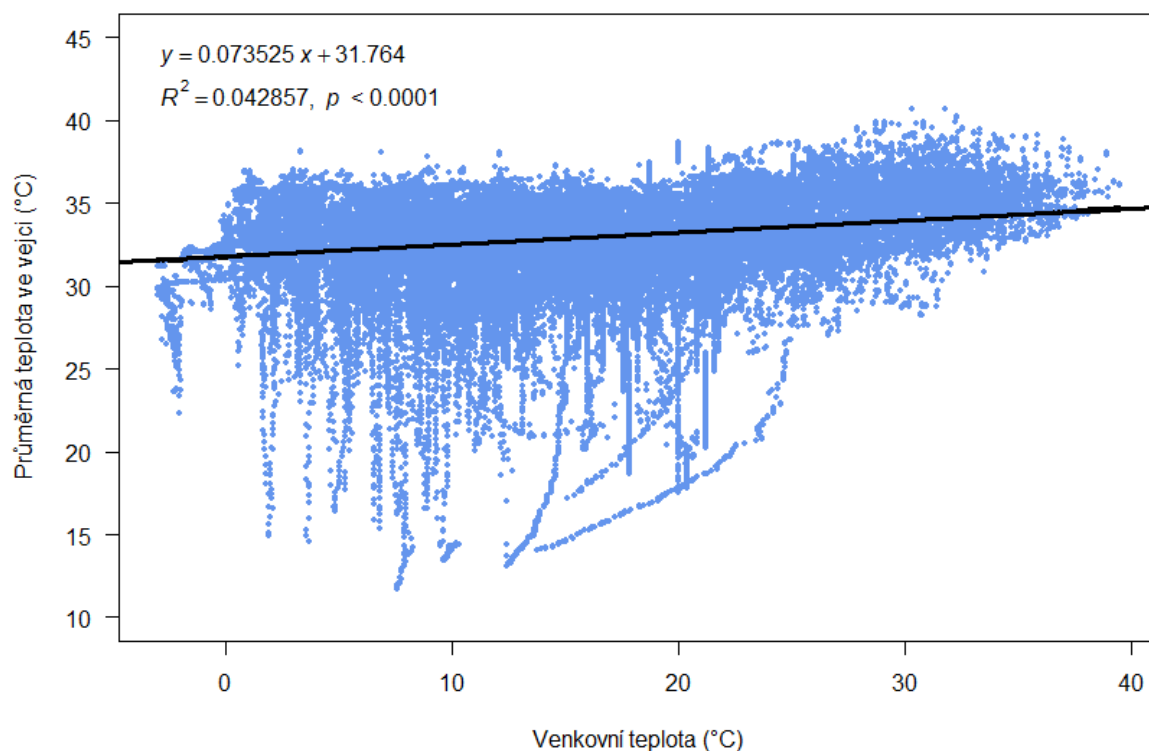


Obr. 22: Rozdíl mezi minimální a maximální teplotou ve vejci během dne u čejky chocholaté. Graf vymezuje medián (tučná horizontální čára), horní a dolní kvartil (box), 25% a 75% kvantil minus nebo plus 1,5x mezikvartilové rozpětí (popř. minimum a maximum, pokud představovaly menší hodnotu) a odlehlé hodnoty (kolečka). Zářezy určují rozmezí pro signifikantní rozdíly mezi mediány.



Obr. 23: Minimální teploty ve vejci naměřené v závislosti na velikosti výstelky, kategorie velikosti výstelek viz Metodika: 2.5. Hodnocení výstelky. Graf vymezuje medián (tučná horizontální čára), horní a dolní kvartil (box), 25% a 75% kvantil minus nebo plus 1,5x mezikvartilové rozpětí (popř. minimum a maximum, pokud představovaly menší hodnotu) a odlehlé hodnoty (kolečka). Zářezy určují rozmezí pro signifikantní rozdíly mezi mediány.

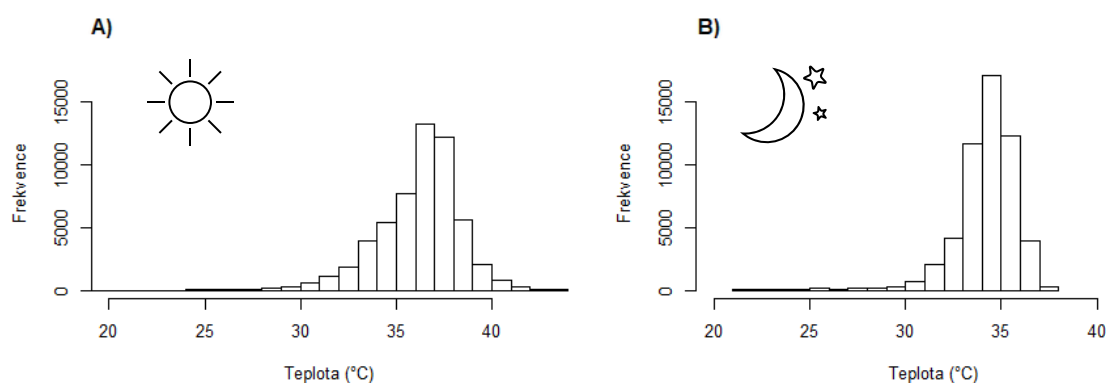
Průměrná teplota ve vejci rostla s rostoucí venkovní teplotou (Obr. 25). Venkovní teplota se pohybovala většinu času pod 37 °C.



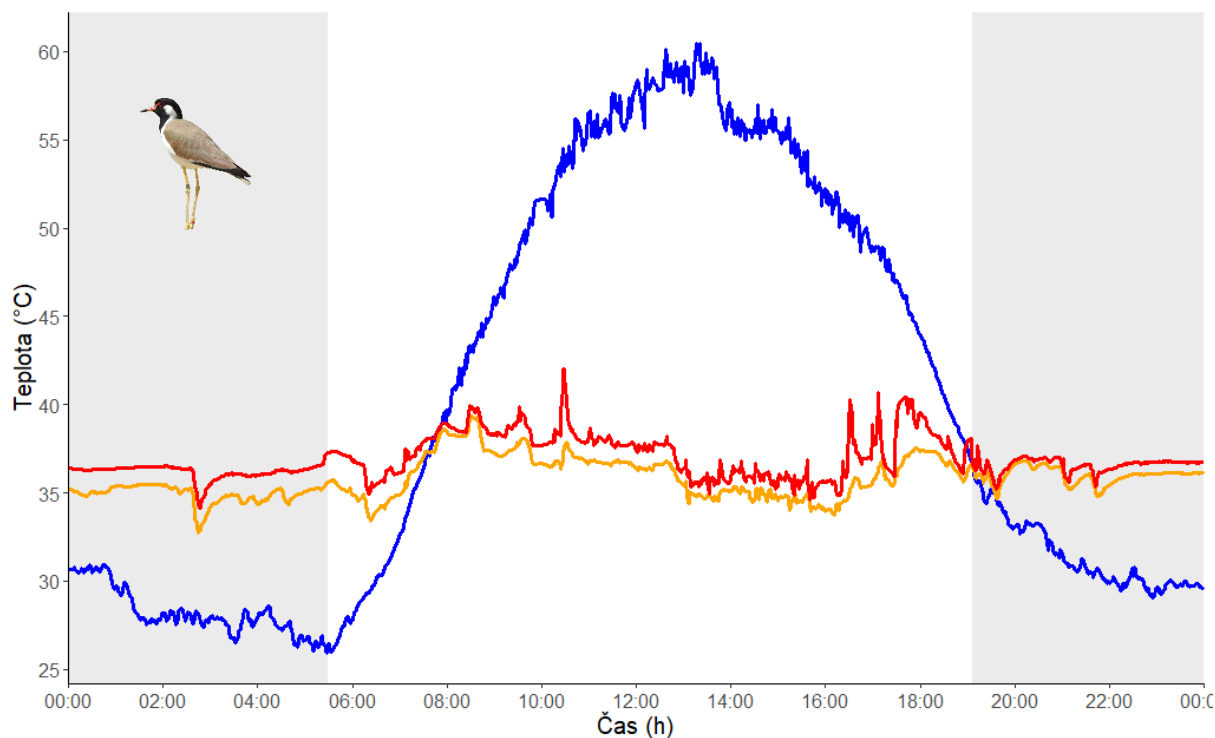
Obr. 24: Vztah mezi venkovní teplotou a průměrnou teplotou ve vejci (lineární regrese): průměrná teplota ve vejci u čejky chocholaté roste s rostoucí venkovní teplotou.

#### 4.2.3 Teplota ve vejci u čejky černoprsé

U čejky černoprsé tato teplota dosahovala ve dne nejčastěji 36–37 °C a v noci 32–34 °C (Obr. 26).



Obr. 25: Četnost teplot naměřených ve vejci během inkubace. A) Denní teploty ve vejci u čejky černoprsé, B) Noční teploty ve vejci u čejky černoprsé.



Obr. 26: Průběh teplot naměřených v hnízdě č. 1 čejky černoprsé, během 8.6.2018, 0:00:00 – 23:59:59. Oranžová – minimální teplota naměřená ve vejci, červená – maximální teplota naměřená ve vejci, modrá – venkovní teplota, šedá oblast – noc, bílá oblast – den.

V druhé části hnízdní sezóny dosahovala venkovní teplota u čejek černoprsých výjimečně i 60 °C (Obr. 27). Teploty naměřené čtyřmi senzory rozmístěnými po obvodu vejce se v některých částech dne navzájem lišily i o 10 °C. Z tohoto důvodu byla analyzována minimální, průměrná i maximální teplota zvlášť.

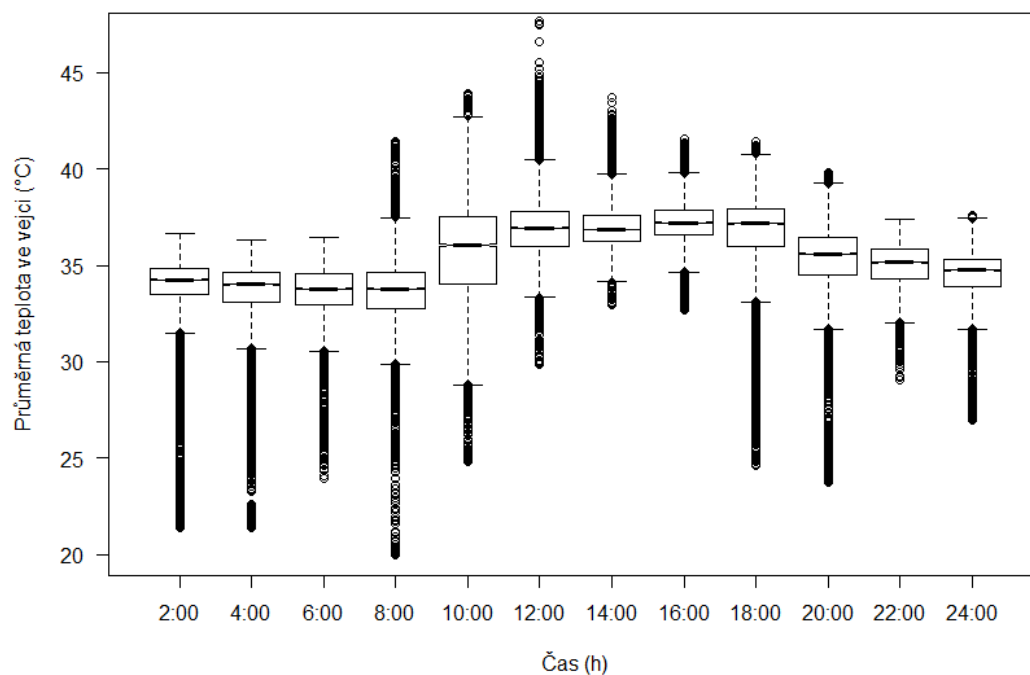
Nejsilnějším prediktorem teploty ve vejci byla rytmicita dne a s tím související rozdíly mezi dnem a nocí. Mezi 10.–18. hodinou byla teplota ve vejci vyšší než v ostatních částech dne (Obr. 28). Dále byla významným prediktorem venkovní teplota, která ovlivňovala nejvíce minimální teplotu naměřenou ve vejci, nejméně pak maximální teplotu naměřenou ve vejci. Teplota ve vejci rostla v závislosti na venkovní teplotě (Obr. 30).

Vliv podílu kamenů ve výstelce na teplotu ve vejci nebyl prokázán. Výsledky modelu testujícího vliv proměnných na teplotu ve vejci jsou shrnuty v tabulce (Tab. 4).

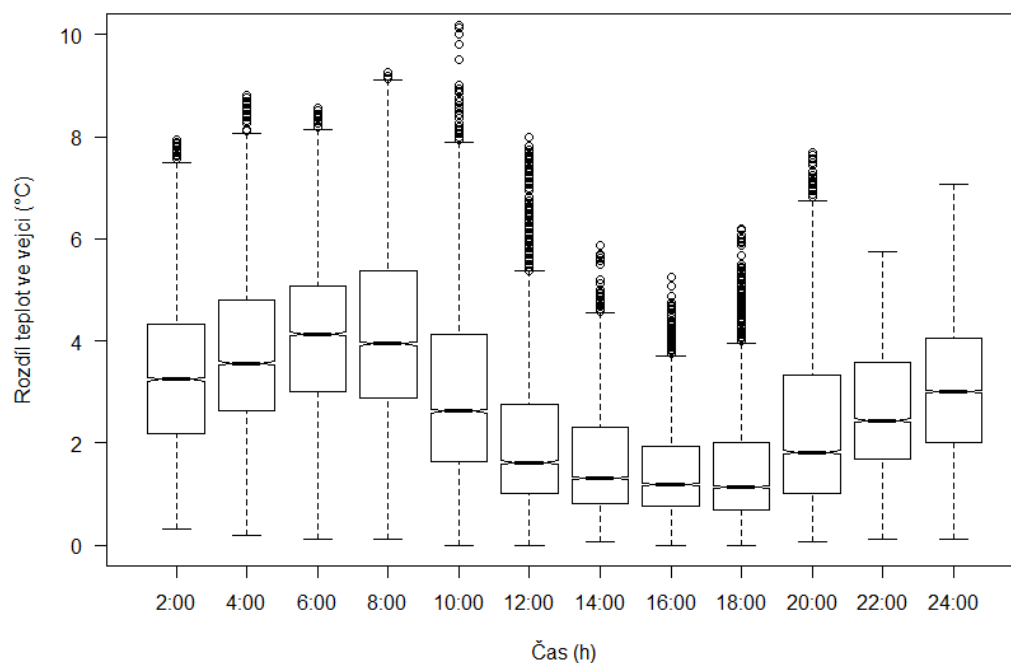
Tab. 4: Vliv jednotlivých proměnných na minimální, průměrnou a maximální teplotu naměřenou ve vejci u čejky černoprsé, N = 109123 měření, 14 hnízd, s.e. = směrodatná chyba odhadu.

	Proměnná	Estimate $\pm$ s.e.	Df	$\chi^2$	p
Maximální teplota ve vejci	Venkovní teplota	$0,05 \pm 0,001$	1	2019,95	<b>&lt; 0,001</b>
	Noc	$0,42 \pm 0,022$	1	353,79	<b>&lt; 0,001</b>
	Podíl kamenů ve výstelce	Méně: $0,08 \pm 0,298$ Více: $0,13 \pm 0,298$ Pouze kameny: $- 0,19 \pm 0,344$	3	0,75	0,8621
	Denní rytmicita (sin)	$- 0,34 \pm 0,010$	1	1250,36	<b>&lt; 0,001</b>
	Denní rytmicita (cos)	$- 0,79 \pm 0,020$	1	1563,60	<b>&lt; 0,001</b>
Průměrná teplota ve vejci	Venkovní teplota	$0,08 \pm 0,001$	1	4321,80	<b>&lt; 0,001</b>
	Noc	$0,51 \pm 0,021$	1	558,90	<b>&lt; 0,001</b>
	Podíl kamenů ve výstelce	Méně: $- 0,24 \pm 0,290$ Více: $0,47 \pm 0,290$ Pouze kameny: $0,02 \pm 0,335$	3	4,10	0,2509
	Denní rytmicita (sin)	$- 0,82 \pm 0,009$	1	7582,00	<b>&lt; 0,001</b>
	Denní rytmicita (cos)	$- 1,03 \pm 0,019$	1	2876,10	<b>&lt; 0,001</b>
Minimální teplota ve vejci	Venkovní teplota	$0,09 \pm 0,001$	1	5522,30	<b>&lt; 0,001</b>
	Noc	$0,50 \pm 0,022$	1	512,70	<b>&lt; 0,001</b>
	Podíl kamenů ve výstelce	Méně: $- 0,59 \pm 0,484$ Více: $0,73 \pm 0,484$ Pouze kameny: $0,33 \pm 0,559$	3	5,00	0,1728
	Denní rytmicita (sin)	$- 1,23 \pm 0,010$	1	15252,70	<b>&lt; 0,001</b>
	Denní rytmicita (cos)	$- 1,14 \pm 0,020$	1	3230,40	<b>&lt; 0,001</b>



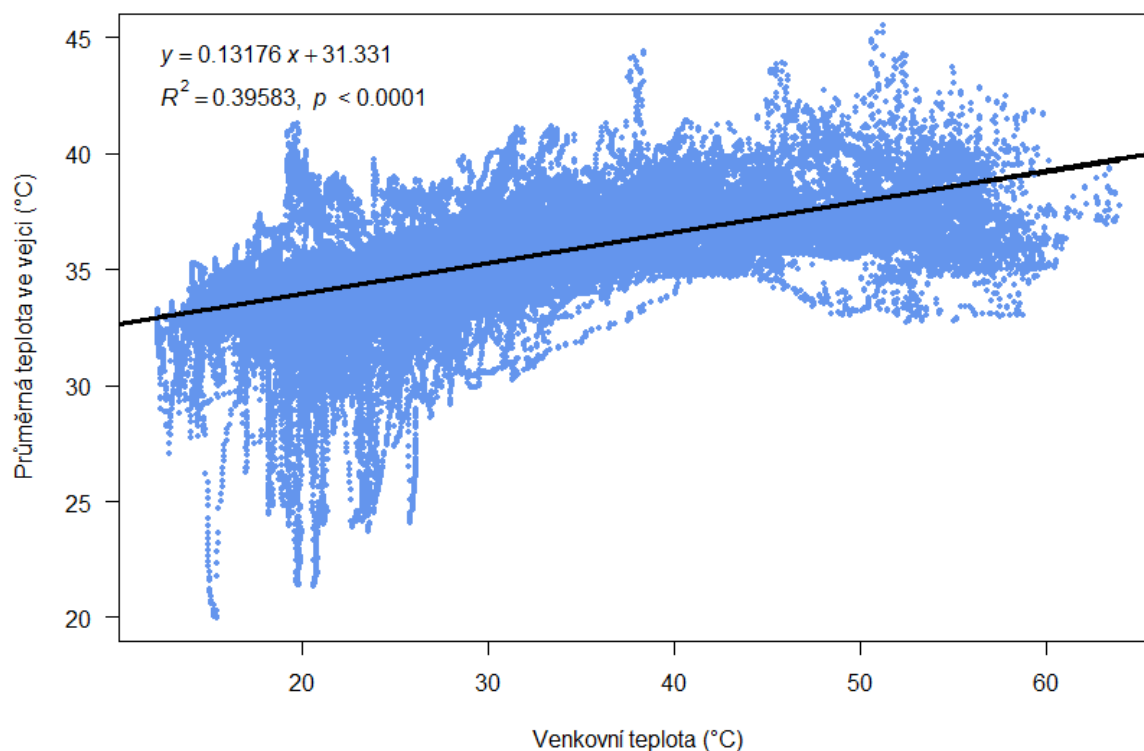


Obr. 27: Průběh průměrné teploty ve vejci během dne u čejky černoprsé. Graf vymezuje medián (tučná horizontální čára), horní a dolní kvartil (box), 25% a 75% kvantil mínus nebo plus 1,5x mezikvartilové rozpětí (popř. minimum a maximum, pokud představovaly menší hodnotu) a odlehlé hodnoty (kolečka). Zářezy určují rozmezí pro signifikantní rozdíly mezi mediány.



Obr. 28: Rozdíl mezi minimální a maximální teplotou ve vejci během dne u čejky černoprsé. Graf vymezuje medián (tučná horizontální čára), horní a dolní kvartil (box), 25% a 75% kvantil mínus nebo plus 1,5x mezikvartilové rozpětí (popř. minimum a maximum, pokud představovaly menší hodnotu) a odlehlé hodnoty (kolečka). Zářezy určují rozmezí pro signifikantní rozdíly mezi mediány.

Rozdíl minimální a maximální teploty byl i u čejky černoprsé v noci výrazně vyšší než ve dne. Nejvyšší je mezi 4.–8. hodinou ránní, nejnižší mezi 14.–18. hodinou (Obr. 29).



Obr. 29: Vztah mezi venkovní teplotou a průměrnou teplotou ve vejci (lineární regrese): průměrná teplota ve vejci u čejky černoprsé rostla s rostoucí venkovní teplotou.

### 4.3 Otáčení vejce v hnízdě – terénní měření

#### 4.3.1 Průměrné hodnoty otáčení naměřené během inkubace

U obou druhů byla průměrná velikost úhlu během jedné manipulace s vejcem ve dne vyšší než v noci (Tab. 5). Průměrné hodnoty se liší i mezi druhy. Čejka chocholatá otáčela vejce průměrně častěji a o větší úhel než čejka černoprsá.

Tab. 5: Hodnoty otáčení naměřené při inkubaci u čejky chocholaté a č. černoprsé během umístění měřicího vejce v hnízdě. U průměrných hodnot je vždy uvedena směrodatná odchylka.

	<i>Vanellus vanellus</i>	<i>Vanellus indicus</i>
--	--------------------------	-------------------------

	den	noc	den	noc
Velikost úhlu během jedné manipulace $\geq 5^\circ \pm \text{S.D.}$ ( $^\circ$ )	20,47 $\pm$ 23,26	21,67 $\pm$ 23,03	15,6 $\pm$ 18,46	13,62 $\pm$ 15,79
Velikost úhlu během jedné manipulace $\geq 10^\circ \pm \text{S.D.}$ ( $^\circ$ )	31,25 $\pm$ 27,17	30,52 $\pm$ 27,36	25,07 $\pm$ 22,88	22,6 $\pm$ 20,33
Počet manipulací za hodinu $\geq 5^\circ \pm \text{S.D.}$	3,49 $\pm$ 1,59	1,85 $\pm$ 1,38	1,92 $\pm$ 0,85	1,64 $\pm$ 1,15
Počet manipulací za hodinu $\geq 10^\circ \pm \text{S.D.}$	2,00 $\pm$ 1,11	1,02 $\pm$ 1,011	0,93 $\pm$ 0,50	0,73 $\pm$ 0,53
Celkový úhel otočení za hodinu (pro úhly $\geq 5^\circ$ ) $\pm \text{S.D.}$	1,4 $\pm$ 15,08	4,40 $\pm$ 10,91	0,99 $\pm$ 8,96	0,83 $\pm$ 8,29
Celkový úhel otočení za hodinu (pro úhly $\geq 10^\circ$ ) $\pm \text{S.D.}$	1,29 $\pm$ 15,36	4,38 $\pm$ 10,12	0,83 $\pm$ 8,36	0,76 $\pm$ 7,85
Absolutní úhel otočení za hodinu (pro úhly $\geq 5^\circ$ ) $\pm \text{S.D.}$	70,04 $\pm$ 47,78	34,92 $\pm$ 40,65	29,52 $\pm$ 18,97	22,68 $\pm$ 16,60
Absolutní úhel otočení za hodinu (pro úhly $\geq 10^\circ$ ) $\pm \text{S.D.}$	60,25 $\pm$ 45,82	29,27 $\pm$ 39,04	22,90 $\pm$ 17,30	16,70 $\pm$ 13,11

#### 4.3.2 Otáčení vejce u čejky chocholaté

##### Velikost úhlu otočení vejce

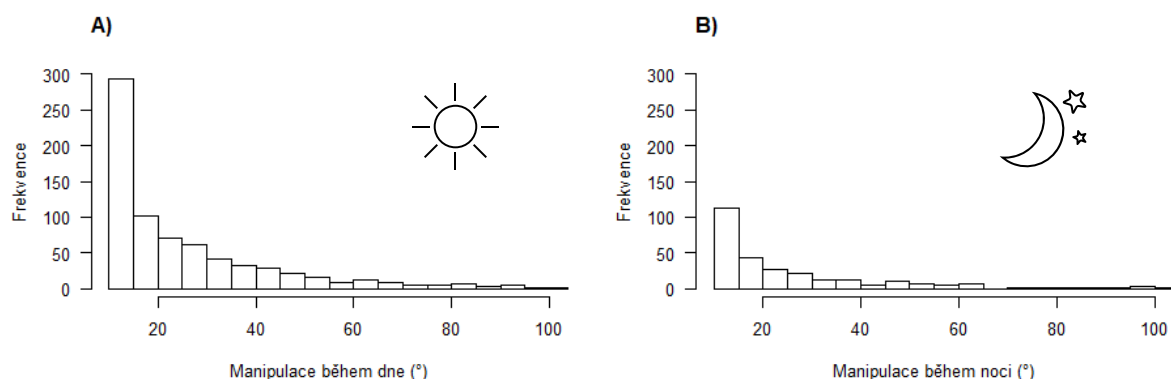
Žádná z proměnných neměla prokazatelný vliv na velikost úhlu otáčení. Nebyla prokázána **denní rytmicita** (LMER: N = 73976 měření, 13 hnízd;  $\chi^2_{\sin} = 0,03$ ;  $\text{Df}_{\sin} = 1$ ;  $p_{\sin} = 0,8721$ ;  $\chi^2_{\cos} = 1,60$ ;  $\text{Df}_{\cos} = 1$ ;  $p_{\cos} = 0,2061$ ), ani vliv **objemu výstelky** (LMER: N = 73976 měření, 13 hnízd;  $\chi^2 = 2,45$ ;  $\text{Df} = 3$ ;  $p = 0,4846$ ), ani **venkovní teploty** (LMER: N=73976 měření, 13 hnízd;  $\chi^2 = 2,74$ ;  $\text{Df} = 1$ ;  $p = 0,0978$ ) či vliv **dne/noci** (LMER: N = 73976 měření, 13 hnízd;  $\chi^2 = 0,0107$ ;  $\text{Df} = 1$ ;  $p = 0,9178$ ). Avšak absolutní úhel otočení vejce za hodinu u čejky chocholaté se průkazně liší mezi **dnem a nocí**, (LMER: N = 64;  $\chi^2 = 12,01$ ;  $\text{Df} = 1$ ;  $p < 0,001$ ; Obr. 32 A). Ve dne bylo vejce otáčeno průměrně o 60,25  $\pm$  45,82°/hod, zatímco v noci průměrně o 29,27  $\pm$  39,04°/hod (viz také Tab. 5).

##### Frekvence manipulací s vejcem

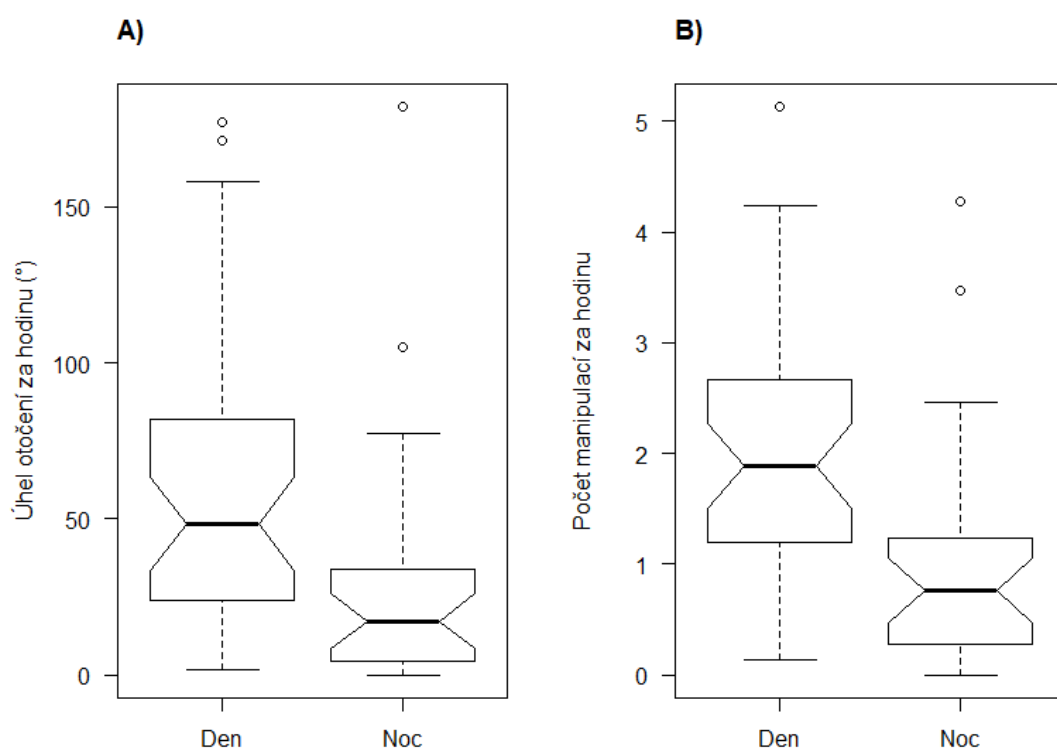
Nebyla prokázána **denní rytmicita** manipulací během dne (LMER: N = 73976 měření, 13 hnízd;  $\chi^2_{\sin} = 2,05$ ;  $\text{Df}_{\sin} = 1$ ;  $p_{\sin} = 0,1521$ ;  $\chi^2_{\cos} = 0,43$ ;  $\text{Df}_{\cos} = 1$ ;  $p_{\cos} = 0,5133$ ), ani vliv **objemu výstelky** na frekvenci manipulací (LMER: N = 73976 měření, 13 hnízd;  $\chi^2 = 1,42$ ;  $\text{Df} = 3$ ;  $p = 0,7007$ ). Avšak byl prokázán vliv **venkovní teploty** na frekvenci manipulací (LMER: N=73976 měření, 13 hnízd;  $\chi^2 = 4,75$ ;  $\text{Df} = 1$ ;  $p = 0,0293$ ). Čím vyšší byla venkovní teplota, tím častěji bylo s vejcem manipulováno.

Také byl prokázán rozdíl mezi **dnem a nocí** (LMER: N = 73976 měření, 13 hnízd;  $\chi^2 = 7,65$ ;  $\text{Df} = 1$ ;  $p = 0,0057$ ). S vejcem bylo manipulováno častěji ve dne než v noci (Obr. 32 B). Počet

manipulací ve dne dosahoval  $2,00 \pm 1,11$  za hodinu a v noci  $1,02 \pm 1,011$  za hodinu, viz také Tab. 5. Při otáčení ve dne i v noci docházelo spíše k častější manipulaci vejce o menší úhel (Obr. 31).



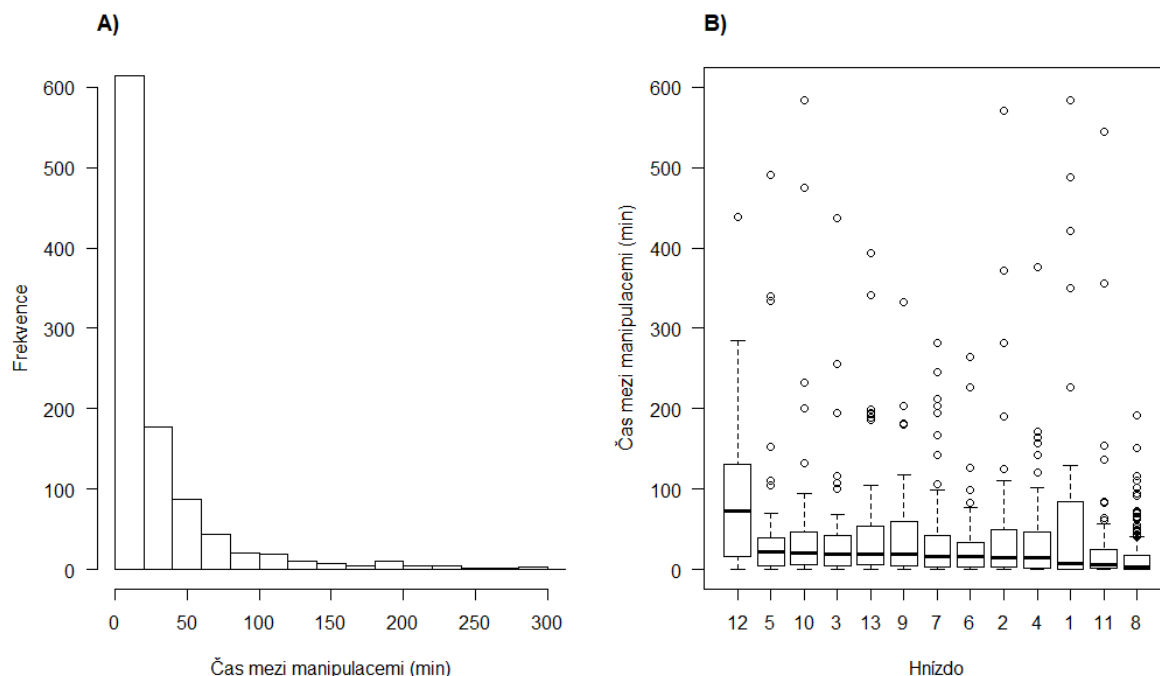
Obr. 30: Frekvence manipulací v závislosti na úhlu. A) Manipulace během dne u č. chocholaté, B) Manipulace v noci u č. chocholaté.



Obr. 31: Manipulace s vejcem ve dne a v noci u čejky chocholaté. A) Absolutní úhel otočení vejcem za hodinu – medián za den  $48,32^\circ/\text{hod}$ , medián za noc  $17,11/\text{hod}$ ; B) Počet manipulací s vejcem za hodinu – medián za den  $1,89/\text{hod}$ , medián za noc  $0,76/\text{hod}$ . Graf vymezuje medián (tučná horizontální čára), horní a dolní kvartil (box), 25% a 75% kvantil mínus nebo plus  $1,5x$  mezikvartilové rozpětí (popř. minimum a maximum, pokud představovaly menší hodnotu) a odlehlé hodnoty (kolečka). Zářezy určují rozmezí pro signifikantní rozdíly mezi mediány.

U čejky chocholaté bylo vejce otáčeno nejčastěji po 12 minutách, průměrně po 36 minutách (Obr. 33 A). Manipulace s vejcem probíhala téměř vždy alespoň jednou za 50 minut. Časový interval

mezi manipulacemi u čejky chocholaté se průkazně lišil mezi jednotlivými hnízdy (GLM:  $N = 990$ ;  $\chi^2 = 5560,7$ ;  $Df = 12$ ;  $p < 0,001$ ; Obr. 33 B).

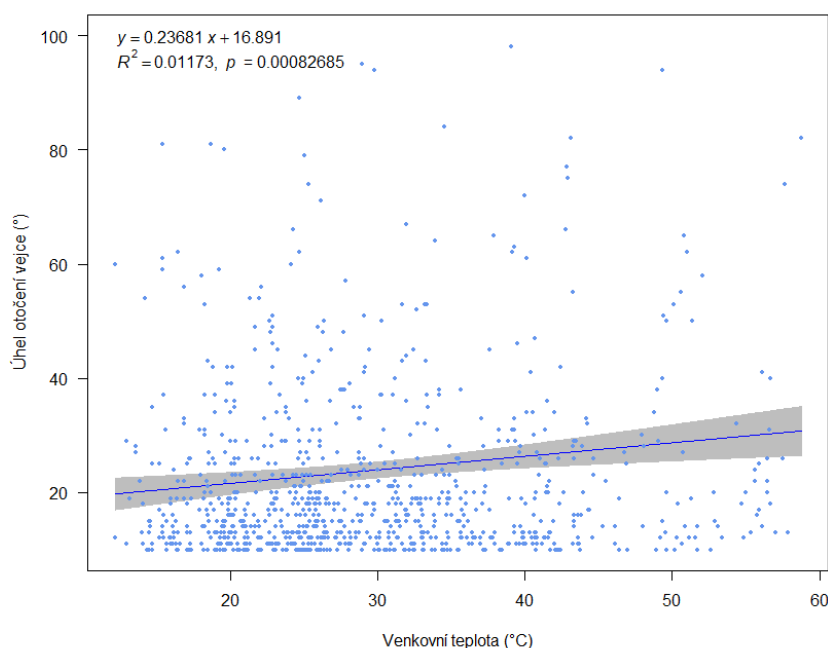


Obr. 32: A) Frekvence manipulací s vejcem při inkubaci v čase. B) Časy mezi manipulacemi s vejcem u jednotlivých hnízd seřazené od nejdelších po nejkratší. Graf vymezuje medián (tučná horizontální čára), horní a dolní kvartil (box), 25% a 75% kvantil mínus nebo plus 1,5x mezikvartilové rozpětí (popř. minimum a maximum, pokud představovaly menší hodnotu) a odlehlé hodnoty (kolečka).

### 4.3.3 Otáčení vejce u čejky černoprsé

#### Velikost úhlu otočení vejce

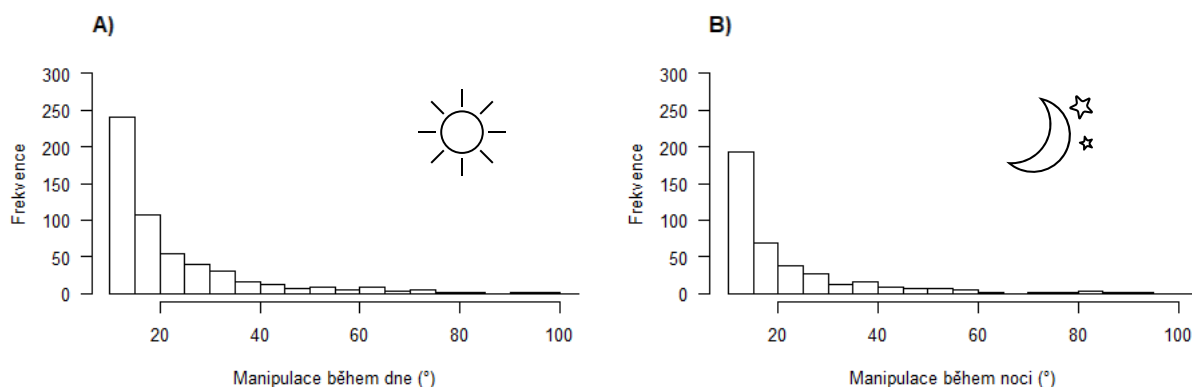
Prokazatelný vliv na velikost úhlu otočení měla **venkovní teplota** (LMER:  $N = 109123$  měření, 14 hnízd;  $\chi^2 = 5,78$ ;  $Df = 1$ ;  $p = 0,0162$ ), čím byla vyšší venkovní teplota tím větší byl úhel otočení vejce (Obr. 34). Nebyl prokázán vliv **rytmicity** (LMER:  $N = 109123$  měření, 14 hnízd;  $\chi^2_{\sin} = 2,70$ ;  $Df_{\sin} = 1$ ;  $p_{\sin} = 0,1001$ ;  $\chi^2_{\cos} = 0,07$ ;  $Df_{\cos} = 1$ ;  $p_{\cos} = 0,7923$ ), ani vliv **dne/noci** (LMER:  $N = 109123$  měření, 14 hnízd;  $\chi^2 = 0,93$ ;  $Df = 1$ ;  $p = 0,3346$ ), ani vliv **podílu kamenů ve výstelce** (LMER:  $N = 109123$  měření, 14 hnízd;  $\chi^2 = 2,76$ ;  $Df = 3$ ;  $p = 0,4307$ ). Ač nebyl prokázán rozdíl velikosti jednotlivých úhlů otočení ve dne a v noci, byl prokázán rozdíl v absolutním úhlu otočení vejce mezi **dnem a nocí**, (LMER:  $N = 101$ ;  $\chi^2 = 4,16$ ;  $Df = 1$ ;  $p = 0,0413$ ; Obr. 36 A). Ve dne bylo vejce otáčeno průměrně o úhel  $22,90 \pm 17,30^\circ/\text{hod}$  a v noci průměrně o úhel  $16,70 \pm 13,11^\circ/\text{hod}$  (Tab. 5).



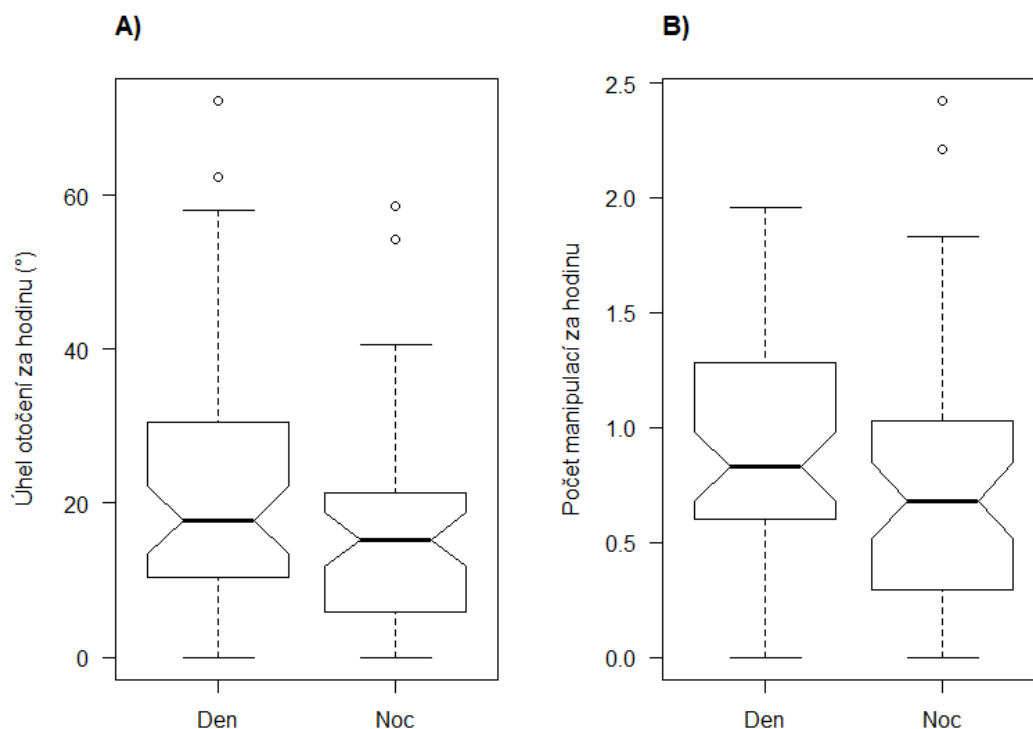
Obr. 33: Lineární regrese – velikost úhlu o který bylo vejce otočeno rostla u čejky černoprsé s rostoucí venkovní teplotou.

### Frekvence manipulací s vejcem

Nebyla prokázána **denní rytmicita** manipulací během dne (LMER:  $N_{\sin} = 109123$  měření, 14 hnízd;  $\chi^2_{\sin} = 1,17$ ;  $Df_{\sin} = 1$ ;  $p_{\sin} = 0,2798$ ; LMER:  $N_{\cos} = 109123$  měření, 14 hnízd;  $\chi^2_{\cos} = 3,95$ ;  $Df_{\cos} = 1$ ;  $p_{\cos} = 0,0468$ ), ani vliv **podílu kamenů** ve výstelce na počet manipulací s vejcem (LMER:  $N = 109123$  měření, 14 hnízd;  $\chi^2 = 0,53$ ;  $Df = 3$ ;  $p = 0,9121$ ). Byl však prokázán vliv **venkovní teploty** na to, zda bylo s vejcem manipulováno (LMER:  $N = 109123$  měření, 14 hnízd;  $\chi^2 = 17,81$ ;  $Df = 1$ ;  $p < 0,001$ ). Nicméně v samostatném modelu vliv venkovní teploty nevyšel průkazně, pravděpodobně je tedy vliv venkovní teploty ovlivněn výrazněji jinými proměnnými (confounding variable). Byl prokázán rozdíl mezi **dnem** a **nocí** (LMER:  $N = 109123$  měření, 14 hnízd;  $\chi^2 = 5,44$ ;  $Df = 1$ ;  $p = 0,0197$ ), K manipulaci docházelo v noci méně často než ve dne (Obr. 36 B). Vejce bylo manipulováno ve dne průměrně  $0,93 \pm 0,50$  za hodinu a v noci  $0,73 \pm 0,53$  za hodinu. Při otáčení docházelo spíše k častějšímu manipulaci vejce o menší úhel, a to jak ve dne, tak v noci (Obr. 35).



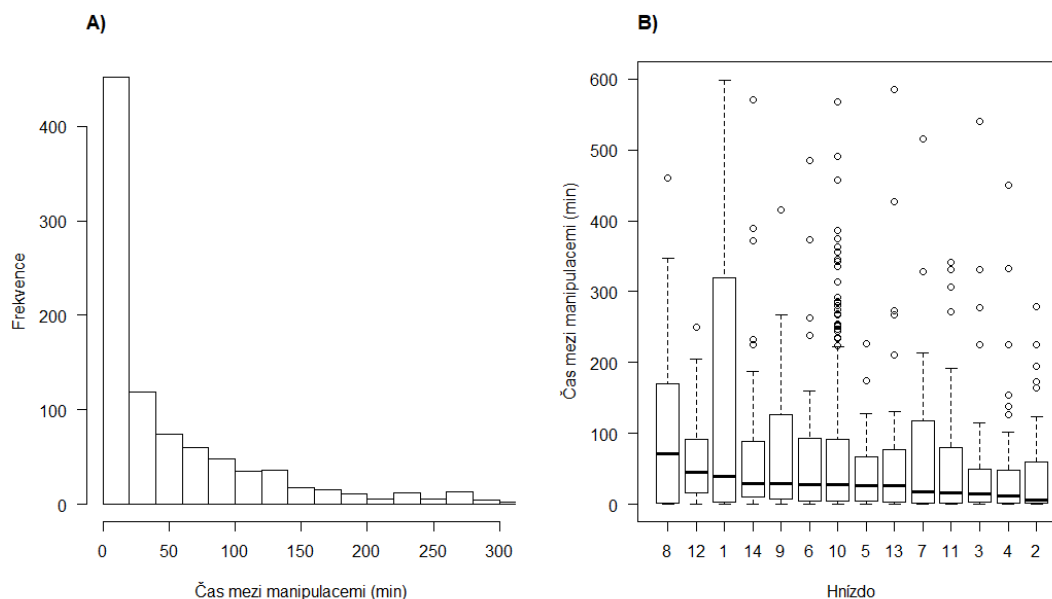
Obr. 34: Frekvence manipulací v závislosti na úhlu A) Manipulace během dne u č. černoprsé, B) Manipulace v noci u č. černoprsé.



Obr. 35: Manipulace s vejcem ve dne a v noci u čejky černoprse. A) Absolutní úhel otočení vejcem za hodinu – medián za den 17,82°/hod, medián za noc 15,29°/hod; B) Počet manipulací s vejcem za hodinu – medián za den 0,83/hod, medián za noc 0,68/hod. Graf vymezuje medián (tučná horizontální čára), horní a dolní kvartil (box), 25% a 75% kvantil minus nebo plus 1,5x mezikvartilové rozpětí (popř. minimum a maximum, pokud představovaly menší hodnotu) a odlehlé hodnoty (kolečka). Zářezky určují rozmezí pro signifikantní rozdíly mezi mediány.

U čejky černoprse bylo vejce otáčeno nejčastěji po 23 minutách, průměrně po 68 minutách (Obr. 37 A). Časový interval mezi manipulacemi u čejky černoprse se průkazně lišil mezi jednotlivými hnízdy (GLM:  $N=887$ ;  $Df = 13$ ;  $\chi^2 = 2688,8$ ;  $p = < 0,001$ ; Obr. 37 B). Dlouhé pauzy mezi manipulacemi s vejcem u hnízda „1“ čejky černoprse (Obr. 37 B, Hnízdo 1) mohou souviset s pozdějším opuštěním snůšky/predací snůšky. Pozorována byla též predace u hnízda „2“ (Obr. 37 B, Hnízdo 2), zde je patrný naopak velmi krátký čas mezi jednotlivými otáčenými.

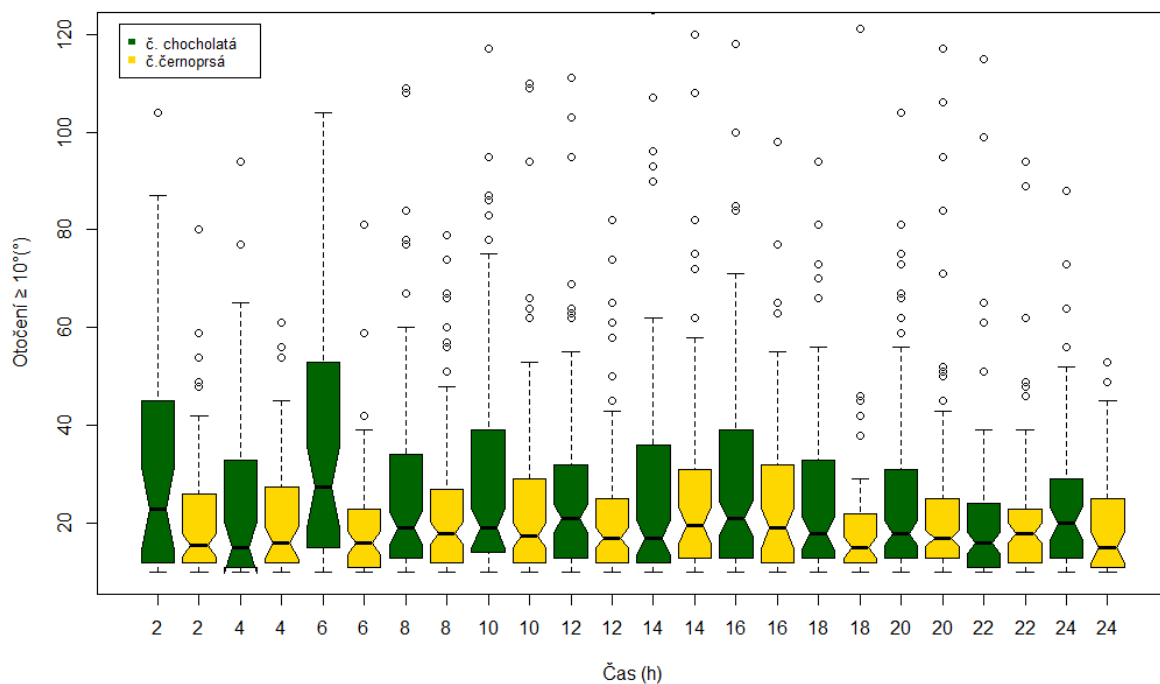




Obr. 36: A) Frekvence manipulací s vejcem při inkubaci v čase. B) Časy mezi manipulacemi s vejcem u jednotlivých hnízd seřazené od nejdelších po nejkratší. Graf vymezuje medián (tučná horizontální čára), horní a dolní kvartil (box), 25% a 75% kvantil minus nebo plus 1,5x mezikvartilové rozpětí (popř. minimum a maximum, pokud představovaly menší hodnotu) a odlehlé hodnoty (kolečka).

#### 4.4 Srovnání naměřených hodnot u obou druhů čejek

Vnitřní teplota vejce se prokazatelně liší mezi druhy (LMER:  $N = 183100$ ;  $\chi^2 = 13,80$ ;  $Df = 1$ ;  $p < 0,001$ ) i v závislosti na všech sledovaných proměnných (kromě vlivu výstelky neboť ta byla u obou druhů hodnocena jiným způsobem). Četnost manipulace s vejcem se mezi druhy neliší (LMER:  $N = 183100$ ;  $\chi^2 = 3,01$ ;  $Df = 1$ ;  $p = 0,0828$ ), liší se mezi druhy pouze v závislosti na venkovní teplotě (LMER:  $N = 183100$ ;  $\chi^2 = 19,42$ ;  $Df = 1$ ;  $p < 0,001$ ). Velikost úhlu otočení se neliší mezi druhy (LMER:  $N = 183100$ ;  $\chi^2 = 1,62$ ;  $Df = 1$ ;  $p = 0,204$ ), liší se též pouze v závislosti na venkovní teplotě (LMER:  $N = 183100$ ;  $\chi^2 = 7,44$ ;  $Df = 1$ ;  $p = 0,0064$ ). Velikost úhlu, o který bylo vejce otočeno, se v průběhu dne výrazně nemění ani u jednoho ze studovaných druhů (Obr. 38).



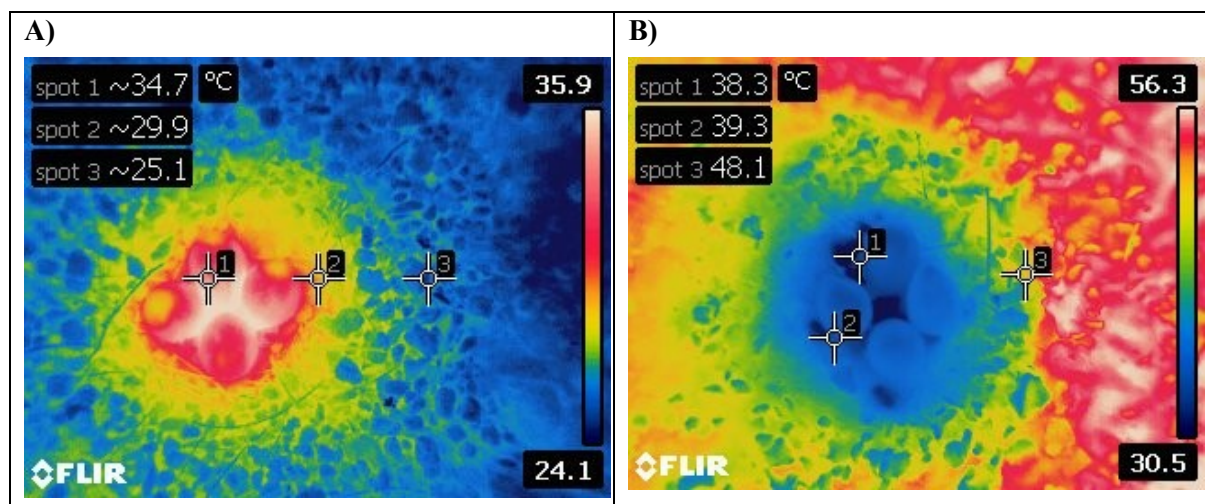
Obr. 37: Manipulace s vejcem během celého dne po dvouhodinových intervalech u obou druhů ptáků. Zeleně – čejka chocholátá, žlutě – čejka černoprsá. Graf vymezuje medián (tučná horizontální čára), horní a dolní kvartil (box), 25% a 75% kvantil mínus nebo plus 1,5x mezikvartilové rozpětí (popř. minimum a maximum, pokud představovaly menší hodnotu) a odlehlé hodnoty (kolečka). Zářezy určují rozmezí pro signifikantní rozdíly mezi mediány.

## 5 DISKUSE

### 5.1 Vliv výstelky u subtropického druhu

Hnízdní kotlinka je u ptáků vystýlána z mnoha různých důvodů (izolace, mechanická ochrana vajec, ochrana před parazity, krypta vajec apod.). V této studii byla testována hypotéza o možné termoregulační roli výstelky u čejky černoprsé v subtropích, která byla již naznačena v předchozí studii u čejky chocholaté (Kubelka et al., 2019). Hlavním cílem laboratorního experimentu bylo zjistit, zda volí čejka černoprsá materiál do výstelky pouze kvůli snížení nápadnosti vajec pro predátory, či si ho vybírá i podle určitých vlastností, které by mohly zajišťovat lepší mikroklimatické podmínky hnízda. To je důležité především ve chvíli, kdy je rodič nucen z jakéhokoliv důvodu opustit hnízdo (při vyrušení, sběru potravy apod.) a samotná vejce jsou v tuto dobu vystavena okolním vlivům – kromě predátorů i okolní teplotě a vlhkosti, které nemusí být pro inkubaci optimální či mohou dokonce poškodit embryo.

Zkoumaný druh má denní aktivitu. Během hnízdní sezóny se na lokalitě Al Marmoom denní venkovní teploty pohybovaly většinou nad inkubačním optimem (Obr. 27 a Obr. 39). Pro zjištění vlivu výstelky na teplotu ve vejci byl proto zvolen experiment, při kterém byla reálná vejce zahřívána na třech různých typech substrátu (výstelka z hnízda, písek, ostatní materiál dostupný v okolí hnízda a potenciálně vhodný jako hnízdní výstelka). Většina experimentů, zabývajících se vlastnostmi výstelky, probíhala na druhích a populacích, které se vyrovnávají s nižšími venkovními teplotami, než je teplota inkubační (Reid et al., 2002; Lamprecht and Schmolz, 2004; Hilton et al., 2004). Naopak vyrovnávání se s vyššími venkovními teplotami bylo studováno méně často (Mayer et al., 2009; Gómez et al., 2016).



Obr. 38: Snímek hnízda čejky černoprsé z termokamery v ranních (A)) a odpoledních (B)) hodinách ukazuje inverzní situaci během dne – ráno jsou vejce i důlek vyhřátý oproti okolnímu substrátu, naopak odpoledne mají snůška, důlek a bezprostřední okolí nižší teplotu. Zdroj: L. Pešková.

Při laboratorním experimentu bylo zjištěno, že typ substrátu, na kterém bylo vejce zahříváno, má vliv na rychlost jeho zahřívání. Prokazatelně nejpomaleji rostla teplota ve vejci položeném na výstelce z hnízda oproti zbylým dvěma testovaným substrátům. Pomalejší zahřívání vejce na výstelce ve srovnání s materiálem dostupným v okolí hnízda popsali také Mayer et al., (2009) u kulíka hvízdavého

(*Charadrius melodus*) a naše výsledky tak ukazují, že termoregulační strategie uplatněná kulíkem hvízdavým může mít i obecnější využití u bahňáků hnízdících v nižších zeměpisných šířkách.

Rovněž teplota naměřená na povrchu substrátu se lišila v závislosti na jeho typu. Největší rozdíl vykazovala povrchová teplota výstelky a písku, dále také teplota výstelky a dostupného materiálu z okolí hnízda. Zajímavé zjištění bylo, že se neprokázal rozdíl povrchové teploty dostupného materiálu z okolí a písku. To může znamenat, že výstelka hnízda nemá pouze termoregulační funkci, ale také funkci antipredační. Růst povrchové teploty písku byl ve všech experimentech velmi podobný, to ukazuje na „metodickou správnost“ experimentu. Malé rozdíly mohou souviset s odlišnými vlastnostmi (velikostí, tvarem, tloušťkou, barvou skořápky) jednotlivých vajec použitých během experimentu.

Bylo prokázáno, že složení výstelky závisí na tom, jaký materiál je dostupný v okolí hnízda. Tulp et al. (2012) u několika druhů bahňáků zjistili, že materiál, nejvíce dostupný na dané lokalitě, byl i nejčastěji zakomponován do výstelky. Oproti tomu bylo zjištěno, že některé typy materiálů jsou ve výstelce častější než jiné a nezávisí to na četnosti jejich výskytu v okolí ani na lokalitě (Graul, 1975; Reid et al., 2002b; Mayer et al., 2009).

Experimenty a terénní měření ukázaly, že výstelka u ptáků hnízdících na zemi může výrazně snižovat pravděpodobnost predace tím, že sníží nápadnost snůšky. Výstelka může pomáhat ke snížení kontrastu mezi vejcem a okolím prostředím. Avšak materiály, které snižují nápadnost vajec nemusí mít vždy vhodné termoregulační vlastnosti, které by pomohly udržet ideální teplotu vajec během inkubace. Naopak dobře izolující materiály (v případě nižších venkovních teplot) mohou zvyšovat nápadnost vajec. Existuje tedy pravděpodobný trade-off mezi vhodnými termoregulačními vlastnostmi výstelky a minimální nápadností hnízda pro predátory (Møller, 1987; Blanco and Bertellotti, 2002; Mayer et al., 2009; Gómez et al., 2018). Toto platí především pro druhy, jejichž snůšky ohrožují ptačí predátoři. Například u čejky chocholaté je hlavním predátorem liška a jiní savci (Kubelka et al., 2018), kteří se však řídí především olfaktorickými vjemy, tedy není možné tuto hypotézu testovat. U čejky černoprsé se ukázalo, že si buduje hnízda na strukturálně velmi diverzifikovaných místech pravděpodobně zvyšujících kryptu snůšky, popř. v místech, která poskytují snadnou dostupnost vhodného stavebního materiálu do hnízda (Šálek et al., nepublikovaná data). To může být například i důsledek většího tlaku ptačích predátorů.

Výstelka u studovaného druhu byla velmi variabilní a obsahovala drobné kamínky, suché kousky větviček a listů, kousky suché hlíny, útržky suchých řas, trus a zcela výjimečně i jiné materiály (uhlíky, alabal apod.). Složení výstelky odpovídalo složení výstelek popsanému u jiných druhů bahňáků, z prostředí, ve kterém se ptáci vyrovnávají s vysokými teplotami během inkubace. Ve výstelkách byly taktéž nalezeny kamínky (Mayer et al., 2009; Gómez et al., 2018), skořápky a klacíky (Gómez et al., 2018). Naopak u bahňáků hnízdících v prostředí s nižšími venkovními teplotami v temperátu nebo Arktidě byly ve výstelce nalezeny spíše materiály s nižší tepelnou kapacitou a vyšší izolační schopností, a sice kousky trav, lišejníků, mech, peří, kousky suchého kravského hnoje, suchý králíčí trus, lusky rostlin, listy, kořínky (Graul, 1975; Ratchliffe, 1976; Tulp et al., 2012), nikoliv však kamínky. Experiment v této diplomové práci ukázal, že jedinou ze složek výstelky, která ovlivnila růst teploty ve vejci, byly právě kamínky. Přítomnost kamínků ve výstelce zpomalila nárůst vnitřní teploty ve vejci, pravděpodobně se tedy jedná o nejzásadnější složku určující tepelné vlastnosti celé výstelky. Kamínky s větší tepelnou kapacitou zajišťují pomalejší růst teploty ve snůšce po dočasném (vynuceném) odchodu

rodiče z hnízda a vnitřní teplota vajec tak dosáhne kritické hodnoty poškozující embryo o něco později, než by dosáhla u vajec v hníždě bez kamínků. Stavba hnízda z kamínků tak může být u těchto subtropických druhů jednou z adaptací na horké klima, v němž tito ptáci budují otevřená hnízda na volných prostranstvích.

Velikost výstelky se u bahňáků mění během inkubace, při snesení prvního vejce může hnízdo obsahovat často minimální množství výstelky, ptáci ji však neustále zvětšují, a to nejen během kompletace snůšky, ale i při samotné inkubaci (Graul, 1975; Ratchliffe, 1976). Je-li výstelka uměle zvětšena či zmenšena, ptáci ji upraví do původního objemu ve velmi krátkém čase (Székely and Szentirmai, 2002). To ukazuje význam objemu výstelky pro udržování optimálních vlastností hnízda během inkubace. Objem výstelky může být určen více faktory, mimo část inkubace to může být i dostupnost vhodného výstelkového materiálu v okolí či vzdálenost hnízda od vody (Kubelka et al., 2019). V našem laboratorním experimentu však nemohl být použit kompletní objem výstelky z hnízda (viz Metodika). Srovnatelně s Hilton et al. (2004) a Mayer et al. (2009) jsme použili pro experiment vždy pouze reprezentativní vzorek o srovnatelné hmotnosti 50 g (tepelná kapacita materiálu je závislá na hmotnosti).

Na inkubační podmínky může mít vliv nejen složení výstelky a její objem, ale i například uspořádání výstelkového materiálu v hníždě rodičem, tento aspekt je však v laboratorních podmínkách velmi špatně testovatelný. Čejky černoprsé mohou mít velmi objemnou výstelku, která často tvoří zvýšené okraje hnízda, což může mít vliv na stínění. Samozřejmě mohou teplotu vajec ovlivňovat i další faktory, jako např. proudění vzduchu (Hilton et al., 2004; Tulp et al., 2012), které v našem experimentu nebylo testováno. Nedá se také určit, zda hraje roli i například natočení kamenů v hníždě.

### 5.1.2 Vliv vlastností vejce na jeho teplotu

Podobně jako v jiných studiích zabývajících se vlastnostmi výstelky u ptáků (Gómez et al., 2016 na bahňácích; Lamprecht and Schmolz, 2004 na pěvcích) byla pro laboratorní pokus zvolena vejce křepelky japonské, která jsou na rozdíl od vajec čejky černoprsé komerčně dostupná. Použití umělých vajec, jež vnitřní a vnější strukturou a ani dalšími vlastnostmi (zejména vedením tepla) neodpovídají reálným vejcím, je velmi rozšířené (Reid et al., 2002; Mayer et al., 2009), avšak při experimentech zabývajících se přenosem tepla mezi vejcem a okolním prostředím, jde o nevyhovující náhradu.

Abychom předešli vlivu variability mezi jednotlivými vejci, bylo v experimentu asociováno vždy jedno vejce s výstelkou z hnízda a materiálem dostupným v okolí této výstelky a pro kontrolu bylo každé z vajec zahříváno samostatně také na písku. Křepelčí vejce přesně neodpovídala zabarvení, tvaru, velikosti a hmotnosti vajec čejky černoprsé (ač se jim blížila). Lze však předpokládat, že podobný vliv má výstelka i na vejce čejky černoprsé v přírodě. Vejce křepelky japonské jsou menší než vejce čejky, což pravděpodobně způsobilo rychlejší zahřívání během experimentu, neboť zahřívání a vychládání vajec souvisí s velikostí vejce: stačí totiž rozdíl pouhých několika gramů, který způsobí, že se ve stejných podmínkách těžší vejce zahřívají výrazně pomaleji než lehčí (Hilton et al., 2004). Avšak i u vajec čejky černoprsé, která jsou vystavena přímému slunci, lze předpokládat, že se (možná po delším čase než v našem experimentu) vliv výstelky projeví.

Během experimentu byla teplota uvnitř vejce relativně konstantní ve srovnání s teplotou povrchu substrátu a skořápky. Střed vejce při zahřívání vykazoval v daný okamžik vždy nejnižší teplotu, naopak povrch materiálu vykazoval teplotu nejvyšší. I při přirozené inkubaci bylo prokázáno, že teplota ve středu vejce kolísá vzhledem k venkovní teplotě nejméně (Gee et al., 1995), tedy její změna je nejpomalejší. Rychlost změny teploty ve středu vejce souvisí s již zmíněnou s velikostí a hmotností vejce.

Embryo se v první části inkubace nenachází v úplném středu vejce, lze však předpokládat, že teplota naměřená ve středu vejce je teplotě působící na embryo nejbližší (zejména ve srovnání s teplotou povrchu vejce). Po 10 minutách zahřívání vejce na výstelce z hnízda byl rozdíl mezi vnitřní teplotou vejce (průměrně  $41,51 \pm 1,49$  °C) a teplotou povrchu vejce (průměrně  $46,77 \pm 2,17$  °C) kolem 5 °C, přičemž teplota výstelky byla výrazně vyšší (průměrně  $59,63 \pm 5,67$  °C). Tato termoregulační vlastnost vejce se jeví jako velmi důležitá. Bylo by vhodné zjistit, jak dlouhé jsou průměrné a maximální pauzy „neinkubace“ u čejky černoprse (tj. ty, při kterých není na hnízdě přítomen ani jeden z rodičů) a zda délka pauzy souvisí například s venkovní teplotou či s rozdíly mezi dnem a nocí jako například u čejky chocholaté (Sládeček et al., 2019) a také, zda se delší pauzy projevují např. zvýšenou embryonální mortalitou.

Růst vnitřní teploty při zahřívání vejce ovlivňuje kromě jeho velikosti a hmotnosti i jeho pigmentace, kterou zajišťují barviva protoporfyrin a biliverdin (Bakken et al., 1978). Skvrnitost vajec i podkladová barva skořápky zvyšují krypsi vajec a mohou snižovat riziko predace. Predace je nižší, jestliže se zabarvení vejce více podobá substrátu, na kterém vejce leží. To může rodič ovlivnit například vhodným výběrem místa k hnízdění či vhodným materiálem, který je použit do výstelky (Blanco and Bertellotti, 2002; Gómez et al., 2018).

Mayer et al. (2009) například ukázali, že kamínky, které si vybírají kulíci hvízdaví do hnízdní výstelky, se reflektancí povrchu blíží reflektanci kulíček vajíček více než jiné kamínky dostupné v okolí (a nezávisí to na jejich minerálním složení). Je však otázkou, zda má zabarvení vejce pouze antipredační funkci či také funkci termoregulační.

Vliv zabarvení skořápky na vnitřní teplotu vejce testovali Gómez et al. (2016) u vajec křepelek japonských. Tmavší vejce se zahřívala rychleji než světlejší a daný efekt se projevil už po 5 minutách zahřívání. I v našem experimentu mohly rozdíly v zabarvení způsobit variabilitu v růstu teploty při zahřívání vajec. Gómez et al. (2016) také zjistili, že mediteránní druh kulíka (*Charadrius alexandrinus*) má celkově tmavší vejce oproti tropickému druhu (*Charadrius wilsonia*, ti mají naopak kontrastnější vejce), je však otázkou, zda je důvodem tohoto zabarvení právě zlepšení termoregulace vejce.

Ptáci, kteří si staví otevřená hnízda vystavená slunci, mají často modrá vejce (barvivo biliverdin). Zabarvení vejce může být tedy evoluční odpovědí i na regulaci přehřívání (Bakken et al., 1978). To může také vysvětlit, proč se povrchová teplota vajec v našem experimentu nelišila v závislosti na konkrétním substrátu, na kterém byla vejce zahřívána. Povrchovou teplotu však bylo možné měřit pouze v horní části vejce, kde nedocházelo ke kontaktu vejce a výstelky. Povrch vejce byl ovlivněn teplotou vzduchu (která měla u všech experimentů stejný průběh) pravděpodobně více než teplotou vnitřku vejce. Je však možné, že by se po delší době zahřívání vliv výstelky projevil i na povrchu horní části vejce.

Povrch skořápky křepelčích vajec přesně neodpovídá zabarvením, strukturou a tvarem vejším čejky černoprsé. Vzhledem k celkem podobné fyziologii vajec různých druhů ptáků lze očekávat, že pro čejčí vejce budou platit podobné zákonitosti. Při srovnání povrchové teploty substrátu a skořápky vejce se ukázalo, že povrch skořápky se zahřívá výrazně pomaleji, čímž dochází k tlumení vysokých teplot. Lze tedy konstatovat, že povrchová struktura (zbarvení) vejce spolu s výstelkou hnízda představují důležitou kombinaci faktorů významně přispívajících k zajištění úspěšné vylíhnutí vajec vystavených velkým výkyvům vnějších teplot.

## 5.2 Teplota vejce během inkubace

Použití měřicího vejce s teplotními senzory a akcelerometrem bylo již dříve využíváno u různých druhů ptáků: u raroa prériového (*Falco mexicanus*) a sokola stěhovavého (*Falco peregrinus*, Schwartz et al., 1977), u jeřába kanadského (*Grus canadensis*, Gee et al., 1995), u ústříčníka jihoafrického (*Haematopus moquini*, Adams et al., 1999), u tučňáků kroužkových (*Pygoscelis adeliae*, Beaulieu et al., 2010), u alkouna aleutského (*Ptychoramphus aleuticus*), racka západního (*Larus occidentalis*) a albatrosa laysanského (*Phoebastria immutabilis*, Shaffer et al., 2014; Clatterbuck et al., 2017); či u rybáka Forsterova (*Sterna forsteri*, Taylor et al., 2018). Jde o jeden z nejlepších způsobů, jak zjistit teplotu, které je při přirozené inkubaci embryo vystaveno. Limitací použití měřících vajec je velikost vejce studovaného druhu. Vzhledem ke zdokonalujícímu se vývoji elektronických součástek a zmenšování velikostí baterií lze měřícími vejci nahrazovat stále menší modely.

Vejce použité v našem pokusu mělo čtyři teplotní senzory po obvodu a jeden uprostřed, avšak vzhledem k nefunkčnosti teplotního senzoru v centru vejce bylo nutné vypočítat průměrnou teplotu ve vejci jako průměr hodnot ze 4 senzorů v danou chvíli. Předpokládali jsme, že tato teplota se nejvíce blíží teplotě, které může být v danou chvíli vystaveno embryo ve vejci. Podobnou metodiku jako v předložené práci použili Gee et al. (1995) u jeřába kanadského.

Kromě umístění teplotních čidel ovlivňuje teplotu v měřícím vejci i jeho výplň. Materiál použitý jako výplň do vejce s dataloggerem musí být netoxický, vhodný pro elektrické spoje a zároveň relativně stabilní ve velkém rozmezí teplot (v našem případě -10 °C až +60 °C). Je také důležité, aby výplň co nejvěrněji reflektovala tepelnou vodivost bílku a žloutku. Dalším problémem je to, že se hustota vejce s postupujícím stadiem inkubace mění, neboť dochází k vývoji a růstu embrya, a navíc ke konci inkubace embryo produkuje vlastní teplo. Tyto postupné změny se však již velmi špatně napodobují. Pro zjištění frekvence a velikosti úhlu otáčení vajec je důležité, aby se umělé vejce blížilo svou hmotností co nejvíce reálnému vejci, aby byl datalogger umístěn symetricky a nedocházelo k samovolnému otáčení vejce z důvodu váhového nepoměru.

Do našeho měřicího vejce byl jako výplň zvolen parafín v kombinaci s včelím voskem, parafín použili také Varney and Ellis (1974) a Schwartz et al. (1977), pro snadnou dostupnost, jednoduchou manipulaci při opravách a výměně baterie, vyplnění všech částí vejce bez vniku vzduchových bublin a dobré tepelné vodivosti. Schwartz et al. (1977) srovnávali vychládání a zahřívání vajec naplněných parafínem s reálnými vejci a zjistili u obojího stejné hodnoty. V souvislosti s používáním měřících vajec bylo využíváno mnoho jiných materiálů, které více či méně efektivně napodobují vlastnosti vejce, např.



voda (Adams et al., 1999), sádra (Amat and Masero, 2007), lubrikant (Ardia et al., 2010), lubrikant v kombinaci s modelínou (Clatterbuck et al., 2017), síran barnatý (Taylor et al., 2018).

Odlíšné zabarvení a povrch vejce se během našeho experimentu neukázaly být výrazným problémem. Naskytla-li se příležitost, bylo hnízdo po umístění vejce pozorováno, dokud nepřišel rodič inkubovat. Nikdy nebylo pozorováno podezřelé chování rodiče v souvislosti s umístěním umělého vejce. Barva i velikost vejce ne vždy dobře imitovaly vejce z konkrétního hnízda (viz Obr. 8 A, B, C) avšak nikdy nebylo pozorováno odmítnutí vejce rodiči.

Systémy zahrnující měřicí vejce použité v dřívějších studiích měly vždy pouze interní paměť ve vejci. S tím souvisí dva zásadní problémy. Za prvé, je-li vejce predováno či odstraněno z hnízda rodičem, dochází ke kompletní ztrátě dat. Toho jsme se vyvarovali díky ukládání veškerých dat na SD kartu v autonomní základnové stanici ukryté na zemi do vzdálenosti cca 10 m od hnízda (podobně s menší přesností analogové techniky Varney and Ellis, 1974; Schwartz et al., 1977). Během sběru dat u námi zkoumaných druhů však nedošlo nikdy k vyhození měřicího vejce z hnízda rodičem a bylo-li hnízdo během měření predováno (dva případy), vejce leželo vždy do 1 metru od původního hnízda téměř nepoškozené a mohlo být proto snadno dohledáno. Druhou výhodou je GNSS (GPS) modul základnové stanice, který zajišťuje získání (a tedy i zaznamenání) přesného času každého měření podle času z družic. Zařízení bez GNSS modulu se řídí vlastním časem oscilátoru, u toho však někdy dochází k nepřesnostem v záznamu přesného času, především k různě velké průběžné odchylce, která musí být následně korigována přepočtem podle přesného času počátku a ukončení měření. Navíc v těchto zařízeních mohou vznikat další nelineární posuny času způsobené poklesem napětí baterie v průběhu měření. Vzhledem k získanému přesnému času jsme nemuseli přistoupit k jakékoliv následné časové korekci.

Teplota neměřená měřicím vejcem se pohybovala u čejky chocholaté ve dne mezi 13 °C a 39 °C a v noci mezi 14 °C a 37 °C. Medián hodnot se držel kolem 33–34 °C s velmi častými výkyvy směrem k nižším i vyšším teplotám, avšak skoro nikdy nebyla překročena teplota 40 °C. U čejky černoprse bylo rozmezí hodnot ve dne mezi 20 °C a 48 °C a v noci mezi 21 °C a 38 °C. Rozdíl mezi minimální a maximální teplotou u čejky chocholaté byl průměrně 5 °C (3 °C u čejky černoprse) avšak v extrémech dosahoval i k téměř 20 °C (10 °C u čejky černoprse). Gee et al. (1995) popsali na jeřábech kanadských taktéž maximální rozdíl 10 °C mezi minimální a maximální teplotou v jednom okamžiku, avšak z jejich dat byly úmyslně vynechány extrémní teploty, navíc jsou vejce tohoto druhu výrazně větší. Průměrný rozdíl mezi minimální a maximální teplotou byl kolem 5 °C u čejky chocholaté a 3 °C u čejky černoprse, což je srovnatelné i s druhy s velmi odlišnou ekologií například s 4,5 °C naměřenými u raroa prériového a sokola stěhovavého (Schwartz et al., 1977), tedy toto rozpětí může platit univerzálně napříč ptačími druhy.

Interpretace naměřených teplot může přímo souviset s velikostí vajec. Vzhledem k tomu, že použité měřicí vejce mělo podobné rozměry jako vejce čejky černoprse, ale menší rozměry než vejce čejky chocholaté (Příloha 5), lze usuzovat, že v reálném vejci se mohou hodnoty teplot lišit. Větší vejce mohou například vykazovat menší výkyvy teplot uprostřed vajec. Avšak vzhledem k tomu, že do dat teplota uprostřed vejce nebyla do dat zahrnuta, nemusí být rozdílné rozměry problémem.

Hlavním faktorem ovlivňujícím teplotu vejce je přítomnost rodiče na hnízdě. Kromě inkubace samotné bylo u čejky černoprse pozorováno také další chování, které ovlivňuje teplotu vejce. Snížení

teploty těla rodiče a přímo či nepřímo teploty inkubovaných vajec především v popoledních hodinách bylo zajišťováno stíněním a vlhčením vajec přinesenou vodou (tzv. belly-soaking spočívající v namočení peří na břiše a následná inkubace, vlastní pozorování). Ač může být primárním účelem belly-soakingu snížení teploty těla rodiče, vrátil-li se rodič opět k inkubaci, dochází prokazatelně k rychlejšímu snížení teploty vajec (Nisbet, 1983; Amat and Masero, 2007, 2009).

Během dne docházelo u obou studovaných druhů čejek k rytmickým změnám teploty ve vejci. Analýza ukázala, že se tak dělo nezávisle na venkovní teplotě, a že jsou tyto změny signifikantně silnější než vliv venkovní teploty. U čejky chocholaté docházelo pravidelně k nárůstu minimální i maximální teploty ve vejci mezi 12 a 18 hodinou a u čejky černoprské tomu bylo velmi obdobně (mezi 10–12 hodinou). Zároveň byl v tuto dobu nejmenší rozdíl mezi minimální a maximální teplotou naměřenou ve vejci. Naopak k největším změnám teploty docházelo při východu a západu slunce (podobně také Gee et al., 1995). Největší propad teplot ve vejci byl pozorován v časných ranních hodinách.

V datech byly patrné rozdíly v teplotě ve vejci mezi dnem a nocí. Ty byly výraznější u čejky černoprské. Rozdíly mezi dnem a nocí mohou souviset s tím, že oba studované druhy mají denní aktivitu. Během dne dochází k častějšímu opuštění hnízda za účelem krmení, naopak v noci ptáci opouští snůšku pouze minimálně (jsou-li vyrušeni). S tím souvisí právě větší kolísání teplot ve dne oproti noci popsané i u jiných druhů ptáků (Clatterbuck et al., 2017; Taylor et al., 2018). Průměrný rozdíl teplot u čejky chocholaté a čejky černoprské mezi dnem a nocí ukazuje, že ve dne je teplota o 1–2 °C vyšší než v noci (vlastní data). Podobně je tomu i u rybáků Forsterových – rozdíl 1 °C (Taylor et al., 2018), alkounů aleutských, racků západních a albatrosů laysanských – rozdíl 2,4 °C (Clatterbuck et al., 2017). Naopak Schwartz et al. (1977) u rarioha prériového a sokola stěhovavého nepozorovali žádné rozdíly v teplotě ve vejci mezi dnem a nocí.

Jedním z možných vysvětlení odlišných výsledků může být umístění hnízda. Výše uvedené druhy, u kterých byl prokázán rozdíl mezi dnem a nocí, hnízdí převážně na zemi, kde jsou výraznější výkyvy venkovních teplot. Dalším vysvětlením může být odlišný inkubační rytmus. Bylo popsáno, že sokoli inkubují snůšku větší část dne – 98 % dne (Tarboton, 1984), ve srovnání s čejkami chocholatými – 88 % dne (Sládeček et al., 2019). Sokoli tedy mohou svou inkubační aktivitou zajistit stabilnější teploty během dne i noci.

Teplota ve vejci průkazně rostla s venkovní teplotou. To bylo pozorováno u obou zkoumaných druhů. Nejvíce byla ovlivněna ta část vejce, která ležela na výstelce (spodní část vejce), což může svědčit o termoregulačním významu hnízdní výstelky (viz dále). Nejméně byla okolní teplotou ovlivněna maximální teplota vejce (tj. část vejce, která je při inkubaci v kontaktu s rodičem). Jako hlavní faktor, který ovlivňuje teplotu ve vejci, se v mnoha studiích jeví právě venkovní teplota (Schwartz et al., 1977; Gee et al., 1995; Székely and Szentirmai, 2002; Boulton and Cassey, 2012). Byla-li navíc k dispozici i měření ze středu vejce, bylo patrné, že teplota ve středu vejce fluktuuje vzhledem k venkovní teplotě nejméně a je jí tedy méně ovlivněna než maximální teplota ve vejci (Schwartz et al., 1977; Gee et al., 1995). Bohužel vzhledem k technickým problémům nebylo možné do našich analýz zahrnout teplotu naměřenou senzorem umístěným ve středu vejce.

Výše zmíněný rozdíl mezi minimální a maximální teplotou vejce u čejky chocholaté (~ 5 °C) a u čejky černoprské (2–3 °C) může být vysvětlen větším kontrastem mezi venkovní teplotou a vhodnou

inkubační teplotou na lokalitách, kde probíhal sběr dat. Dalším vysvětlením může být například vliv frekvence manipulací s vejcem, která je u obou druhů odlišná (viz dále).

Dříve zmíněné faktory (venkovní teplota, denní rytmicity) mají na vnitřní teplotu vejce velký vliv a z tohoto pohledu se prokázaný efekt výstelky jeví spíše jako doplňkový. Výstelka hraje roli nejen při inkubaci a přítomnosti rodiče na hnízdě, ale především v době, kdy je rodič na hnízdě dočasně nepřítomen. V této práci se podařilo prokázat vliv objemu výstelky na minimální teplotu ve vejci u čejky chocholaté. Prokazatelně nejnižší teploty byly naměřeny u hnízd s nejmenší výstelkou, naopak nejvyšší teploty byly naměřeny v hnízdech s největší výstelkou. U hnízda s velkou výstelkou situovaného ve výrazně podmáčeném prostředí byly též naměřeny nižší inkubační teploty ve srovnání s podobně velkými výstelkami na suché půdě. Je důležité zmínit, že mezi hnízdy, ze kterých byla sbírána data, se vyskytovalo pouze toto jedno hnízdo umístěné na podmáčeném poli v bezprostřední blízkosti stojící vody. Výstelka tohoto hnízda převyšovala svým objemem všechna ostatní hnízda. To je ve shodě s poznatky Kubelky et al. (2019), kteří popsali u stejného druhu větší výstelku u hnízd, která se vyskytovala na více podmáčeném substrátu.

U čejky černoprsé byl kvůli velké variabilitě v množství použitého materiálu mezi výstelkami testován (již v experimentu prokázaný) vliv podílu kamenů ve výstelce na teplotu ve vejci. Tento efekt však nebyl u hnízd v přírodě prokázán. Pravděpodobně zde tedy hrály roli jiné významnější faktory, které výrazněji ovlivnily teplotu ve vejci. Lze předpokládat, že klíčovou roli sehrává kolísání venkovní teploty během dne a noci, vzdálenost od vody a zastínění vegetací. Výsledek mohl ovlivnit i malý počet hnízd, která byla testována v kontrastu s velkou variabilitou v jejich výstelkách. To však neznamená, že složení výstelky nehraje alespoň podružnou roli v udržování teploty vajec. Význam by přitom mohl narůstat především v druhé polovině hnízdní sezony, kdy jsou venkovní teploty výrazně vyšší. Například v červnu během sběru dat bylo v bezprostřední blízkosti hnízd čejek černoprsých naměřeno téměř 64 °C.

Vliv stáří embrya na vnitřní teplotu vejce se nám stejně, jako v práci Beaulieu et al. (2010), nepodařilo prokázat. Řada autorů však tento účinek prokázalo. V naprosté většině případů byla popsána zvyšující se průměrná teplota ve vejci s postupující fází inkubace a stářím embrya (Eycleshymer, 1907; Gee et al., 1995; Boulton and Cassey, 2012; Taylor et al., 2018). Taylor et al. (2018) diskutují, že zvyšování teploty může souviset spíše se zvyšující se venkovní teplotou v sezóně během průběhu inkubace. Rozdíl v teplotě vejce na počátku a konci inkubace podporuje také to, že během posledních několika dní inkubace přispívá ke zvyšující se teplotě vejce i teplo produkované samotným embryem (Eycleshymer, 1907). V našem souboru byl však nedostatek dat především z poslední fáze inkubace.

Vyšší teploty v pozdějších fázích inkubace mohou být vysvětleny též změnou chování inkubujícího rodiče (rodičů). Eycleshymer (1907) popsal u kura domácího zkracování pauz v druhé polovině inkubace vajec. Avšak Sládeček et al. (2019) nepozorovali rozdíly v přítomnosti čejčích rodičů na hnízdě vzhledem k fázi inkubace. Ačkoliv byla sebrána data o inkubaci (přítomnosti na hnízdě) u mnoha párů a bude možno tuto hypotézu otestovat i u čejky černoprsé, data nebyla zatím vyhodnocena. Výsledky této práce nicméně poukazují na složitost problematiky studia inkubační teploty u ptačích vajec. Zřejmá je také poměrně velká variabilita (kolísání) inkubačních teplot ovlivňovaných řadou faktorů, z nichž některé nemohou být ovlivněny (regulovány) inkubujícími rodiči. To tedy nutně

předpokládá i značnou toleranci vyvíjejících se embryí vůči těmto vlivům, která má ovšem také svá omezení.

### 5.2.1 Propojení poznatků z laboratorních experimentů a z přírody

Při laboratorních experimentech na kuru domácím (*Gallus gallus*), zebřičce pestré (*Taeniopygia guttata*) či kachně divoké (*Anas platyrhynchos*) byl studován dopad inkubace vajec při dlouhodobě neoptimálních teplotách. Dlouhodobé vystavení vajec nízkým inkubačním teplotám (pod 36 °C) způsobilo častější smrt embrya před vylíhnutím (Prince et al., 1969; Koláčková et al., 2015), snížené přežívání mláďat po vylíhnutí (Wada et al., 2015), nesprávný a zpomalený vývoj embrya (menší prokrvenost jednotlivých částí), nižší hmotnost embrya, vyšší obsah bílku ve vejci po vylíhnutí (Deeming, 1989a) a zvýšenou produkci tepla po vylíhnutí (Nichelmann and Tzschentke, 1999). V některých fázích inkubace bylo navíc embryo k inkubační teplotě výrazně citlivější než v jiných. U kura domácího byla tato „kritická“ perioda zjištěna mezi 3 – 7 dnem vývoje (Deeming, 1989a). Dlouhodobě vysoké inkubační teploty kolem 39 °C způsobily také úhyn embrya (Prince et al., 1969; Piestun et al., 2008b; Collins et al., 2013; Koláčková et al., 2015; Wada et al., 2015) a defektní vývoj mláďat (Koláčková et al., 2015). Zároveň byly vysoké teploty spojeny s vyšší hmotností mláďat po vylíhnutí (Collins et al., 2013) a jejich většími rozměry (Prince et al., 1969). Se zvyšující inkubační teplotou se zkracovala doba inkubace (Prince et al., 1969; Koláčková et al., 2015), což může být pro ptáky inkubující ve volné přírodě výhodné. Převážně je však negativní vliv dlouhodobě neoptimálních teplot na vývoj embrya ve vejci.

V přírodě jsou však patrné spíše krátkodobé výkyvy teplot, které v laboratorních podmínkách doposud nebyly studovány. Z dat v této diplomové práci vyplývá, že embryo je během inkubace vystaveno u obou druhů velkému rozmezí teplot (čejka chocholátá 13–39 °C, čejka černoprsá 20–48 °C). Teplota ve vejci (ač blízko povrchu) dosahovala krátkodobě teplot, které se mezi sebou lišily i 28 °C. Teplota v jeden okamžik nebyla ve všech částech vejce stejná, naopak se lišila i o 10–20 °C, a to i u tak malých vajec, jako jsou vejce čejek. Ačkoliv nebylo možné zahrnout do analýzy vliv teploty ve vejci na jeho líhivost, zaměříme-li se pouze na data z hnízd, u kterých bezpečně víme, že se alespoň jedno vejce vylíhlo (dostupné pouze u čejky černoprsé), získáme následující teploty naměřené ve vejci: minimální = 20,68 °C, maximální = 47,31 °C, rozdíl minimální a maximální teploty v jeden okamžik = 8,93 °C. Uvedené hodnoty se nijak výrazně neliší od hodnot naměřených u všech hnízd bez ohledu na to, zda se vylíhla či nikoliv. Tyto extrémní výkyvy mohou mimo jiné ukazovat na jeden z důvodů, proč nemusí být inkubace v mechanických inkubátorech vhodná. Teplota vajec v inkubátoru je ve všech částech vejce vždy stejná a v praxi není ani možné s ní manipulovat. Při přirozené inkubaci je vejce vystaveno výrazným výkyvům venkovních teplot. Je možné, že tyto výkyvy jsou důležité pro zdárný vývoj embrya, ovšem v praxi se v líhních nic takového neuplatňuje. V tuto chvíli lze pouze spekulovat o možném vlivu nestabilní inkubační teploty například na chování mláďat a následně i dospělců. Jednou z prací, která může naznačovat důležitost vlivu vysokých a nízkých teplot během inkubace na pozdější vývoj jedince, je výzkum vývoje hypotalamu (centra zodpovědného za udržování stálé tělesné teploty) u ptáků. Ukázalo se, že inkubační teplota ovlivnila po vylíhnutí poměr neuronů v hypotalamu, které jsou senzitivní na chlad, teplo či neutrální. Nízké teploty v posledním týdnu inkubace mohou vyvolávat

postnatální adaptace na chlad a vysoké teploty adaptace na teplo (Tzschentke and Basta, 2002). Termoregulace je tedy jednou ze zásadních schopností, která může být negativně postižena špatným režimem inkubace. Je zřejmé, že rovnoměrná inkubační teplota neodpovídá teplotě, které jsou vystavena embryo v přirozeném prostředí. Lze usuzovat, že u na zemi hnízdících ptáků jsou výkyvy teplot výraznější a možná tedy pro správný vývoj důležitější než u jiných ptáků. Celkově jde o téma, kterému by měla být věnována pozornost v navazujících studiích.

### 5.3 Otáčení vejce během inkubace

Otáčení vejce během inkubace má zásadní vliv na vývoj embrya. Použití měřicího vejce pro zjištění frekvence a velikosti otáčení je hojně využíváno v kombinaci s měřením teploty, viz výše (Schwartz et al., 1977; Gee et al., 1995; Beaulieu et al., 2010; Shaffer et al., 2014; Clatterbuck et al., 2017; Taylor et al., 2018). Jde pravděpodobně o dosud nejefektivnější nástroj pro zjištění frekvence a způsobu manipulace s vejci v hnízdě. Další možností je sledování inkubujících rodičů (Eycleshymer, 1907) či snímání hnízda a vajec (termo)kamerou (Boulton and Cassey, 2012). Tímto způsobem však nelze spolehlivě určit úhel otočení vejce. Otáčení vejce souvisí s velikostí vejce, vahou vejce a způsobem otáčení. U slepic byly popsány tři způsoby otáčení vejce i) celým tělem, hýbáním ze strany na stranu, ii) otáčení zobákem při stání mimo hnízdo iii) otáčení zobákem při sezení na hnízdě (Eycleshymer, 1907). Zůstává otázkou, jakým způsobem otáčí vejce druhy, které byly zahrnuty do této práce. Jelikož byly v letošním roce u čejek černoprských spolu s vejci na řadě hnízd instalovány kamery, bude v budoucnu možné zjistit jakým způsobem manipulace s vejcem probíhá.

Problematika otáčení vajec u ptáků během inkubace (např. frekvence během dne, rozsah, mezidruhovná variabilita, vliv na líhivost vajec apod.) nebyla dosud příliš zkoumána a není dostatečně objasněna. V současné době není jasné, jak velkou změnu úhlu lze považovat za cílené otáčení vejce. V souladu s některými autory jsem vybrala pro analýzu otáčení pouze manipulace o úhel větší nebo roven  $10^\circ$  (úhel  $> 15^\circ$ : Beaulieu et al., 2010; úhel  $\geq 10^\circ$ : Shaffer et al., 2014; úhel  $> 10^\circ$ : Clatterbuck et al., 2017). V budoucích experimentech by pravděpodobně pomohla kombinace měřicího vejce a videokamery na hnízdě, aby bylo zřejmé, kdy je vejce otočeno rodičem cíleně a kdy nikoli.

Námi naměřená rychlost otáčení může být nepřesná vzhledem k tomu, že jsme se zaměřili pouze na otáčení kolem delší osy vejce. Avšak někteří autoři (Shaffer et al., 2014; Clatterbuck et al., 2017) při výpočtu otáčení zahrnuli všechny tři osy (x, y, z). Shaffer et al. (2014) dokonce diskutuje, že triaxiální akcelerometry mohou ukazovat rychlost otáčení až o 10–30 % vyšší. Průměrně docházelo k 1–2 manipulacím za hodinu u čejky chocholaté a k 1 manipulaci za hodinu u čejky černoprské. Experimenty v laboratorních podmínkách na modelu kura domácího ukazují, že nejsou-li vejce otáčena vůbec, dochází k velké mortalitě embryí. Této mortalitě je možné předejít otáčením alespoň 2x denně. Čím častější je manipulace, tím vyšší je také líhivost vajec (Eycleshymer, 1907; Schalkwyk et al., 2000; Elibol and Brake, 2006a). Navíc častější manipulace může kompenzovat negativní vlivy jiných faktorů, např. vyššího stáří rodičů nebo menšího úhlu otočení během manipulace (Elibol and Brake, 2004, 2006a).

Není jasné, zda existuje vliv menších manipulací ( $< 10^\circ$ ) na embryo. Tyto manipulace byly v datech velmi časté, avšak nebyly do analýzy ve shodě s jinými autory zahrnuty, jelikož se

pravděpodobně nejedná o cílené otáčení. Přesto však mohou mít tyto drobné, avšak časté pohyby vliv na vývoj embrya ve vejci. Tomuto tématu se doposud žádná laboratorní ani terénní studie nevěnovala.

Oba druhy čejek otáčely vejce nejčastěji o úhel  $10^\circ$  a to jak ve dne, tak i v noci. Stejně tomu bylo i u hnízd čejky černoprské, u kterých bezpečně víme, že se vylíhlo alespoň jedno mládě. Průměrný úhel otočení během jedné manipulace u čejky chocholaté dosahoval  $31^\circ$ , u čejky černoprské  $23^\circ - 25^\circ$  (tato práce), dále však celých  $39^\circ$  u rybáka Forsterova (Taylor et al., 2018). Clatterbuck et al. (2017) zjistili, že velikost tohoto úhlu se mění s fází inkubace. Naše studie tento efekt nepotvrdila, avšak v tomto případě nelze vyloučit vliv malého vzorku dat zejména u snůšek v pokročilém stadiu inkubace.

Vliv velikosti úhlu během jedné manipulace na vývoj embrya byl studován v laboratorních podmínkách u kura domácího a ukázalo se, že embryo může být úhlem manipulace zásadně ovlivněno. Vyšší úhel během jedné manipulace ( $40^\circ - 45^\circ$ ) má za následek vyšší líhnivost a častěji správnou orientaci embrya ve vejci ve srovnání s menšími úhly ( $20^\circ - 30^\circ$ ; Funk and Forward, 1953; Elibol and Brake, 2006a). U pštrosích vajec byl prokázán také pozitivní vliv velikosti úhlu otočení na embryo. Menší úhel otočení ( $60^\circ$  vs  $90^\circ$ ) měl za následek menší líhnivost, menší váhu embryí po vylíhnutí a prodloužení inkubační doby o 1 den (Schalkwyk et al., 2000). Je tedy otázkou, proč hodnoty u čejek byly poměrně nízké (do  $31^\circ$ ). Jde ovšem o průměrné hodnoty a úhel otáčení o  $40^\circ$  a více, potřebný pro zdárný vývoj embrya, byl u sledovaných hnízd čejek rovněž poměrně hojný (průměrně 9 x za 24 hodin u čejky chocholaté a 3,5 x za 24 hodin u čejky černoprské), takže patrně dostačující pro zdárný vývoj embrya.

K manipulaci s vejci docházelo ve dne i v noci. U obou studovaných druhů byl prokázán rozdíl v počtu manipulací za hodinu mezi dnem a nocí. Ve dne bylo u obou druhů vejce otáčeno častěji než v noci, což prokázali i další autoři u jiných druhů (Gee et al., 1995; Clatterbuck et al., 2017; Taylor et al., 2018). V některých studiích však nebyl prokázán žádný rozdíl mezi rychlostí otáčení ve dne a v noci (Schwartz et al., 1977; Shaffer et al., 2014), zato u alkounů aleutských byla naopak prokázána vyšší rychlost otáčení v noci (Shaffer et al., 2014). Zajímavý je rozpor mezi zjištěnou rychlostí otáčení u albatrosů laysanských a racků západních, neboť Shaffer et al. (2014) uvádí, že zde rozdíly mezi dnem a nocí nejsou, avšak Clatterbuck et al. (2017) u obou těchto druhů pozorovali ve dne vyšší rychlost otáčení oproti noci. Obě studie probíhaly na identických populacích, tedy nelze usuzovat například vliv lokality. Rozdíly v počtu manipulací mezi dnem a nocí nemusí být druhově konzervativní a mohou být ovlivněny jinými faktory, např.: fází inkubace. Vzhledem k malému počtu takto testovaných druhů je v tuto chvíli obtížné hledat zdůvodnění pro tyto rozdíly či jakkoliv tuto variabilitu zobecňovat.

Velikost úhlu se oproti tomu u čejky černoprské a chocholaté během jedné manipulace mezi dnem a nocí nelišila. Lišil se však absolutní úhel otočení za hodinu mezi dnem a nocí. Ve dne byl větší než v noci. To lze vysvětlit jednoduše tím, že většího úhlu bylo docíleno více manipulacemi za hodinu během dne ve srovnání s nocí. Předchozí studie na čejce (Brynychová et al. 2020) ukázala, že noční aktivita čejek chocholatých je omezena na minimum pravděpodobně kvůli zvýšenému riziku predace liškou. Mezi tyto aktivity může patřit i manipulace s vejci. Kromě absolutního úhlu otočení byl také vypočten celkový úhel otočení za hodinu, do jehož výpočtu byla zahrnuta též strana, na kterou bylo vejce otočeno. Ten se pohyboval mezi  $0,8^\circ - 4,4^\circ$  u obou druhů. Tato hodnota nemá pro interpretaci otáčení značnou hodnotu. Avšak lze z ní usuzovat, že rodiče otáčejí vejce symetricky do obou stran o podobný úhel a v konečném důsledku dojde k „vyrušení“ otáčení.

Nepodařilo se prokázat vliv fáze inkubace vajec na frekvenci či úhel otáčení vejce, ačkoliv předchozí studie ukazují, že frekvence manipulací se pravděpodobně nemění v závislosti na fázi inkubace (Beaulieu et al., 2010; Shaffer et al., 2014). Například Clatterbuck et al. (2017) ve své studii pozorovali zmenšování úhlu otočení s postupující fází inkubace. Navíc popsali, že se zvyšujícím stářím embrya se zmenšuje rozdíl mezi průměrnou velikostí úhlů otočení ve dne a v noci.

Neměnnost frekvence otáčení během inkubace čejek je v kontrastu s tím, že laboratorní studie zjistily, že zhruba mezi 3. – 7. dnem nastává období vývoje velmi citlivé na „neotáčení“. Nejsou-li vejce kura domácího v tuto konkrétní dobu otáčena, dochází k výraznému poklesu líhnivosti (Funk and Forward, 1953; New, 1957; Deeming, 1989b, 1989a; Elibol and Brake, 2004;). Další kritické období nastává 12. – 19. den inkubace. Nejsou-li vejce v tuto dobu otáčena, vývoj embrya je zpomalen a nemusí probíhat správně, je pozorována menší spotřeba kyslíku a pomalejší tepová frekvence (Pearson et al., 1996), menší hmotnost embrya a vyšší procento zbývajících bílků ve vejci, který není správně vstřebáván (Tona et al., 2005). Nelze tedy popřít, že mohou existovat i jiné důvody k otáčení vajec než pouze správný vývoj v určitých fázích inkubace popsány v laboratorních studiích. A kvůli těmto důvodům je nezbytné vejce otáčet po celou dobu inkubace. V přírodě je vejce vystaveno mnoha dalším vlivům včetně extrémních venkovních teplot. Otáčení může teoreticky tlumit negativní dopad i těchto vlivů.

Manipulace s vejcem byla u čejky chocholaté častější při vyšších venkovních teplotách. Možným vysvětlením může být to, že při nižších venkovních teplotách panujících v temperátu sedí čejka pevněji (aby nedošlo ke ztrátě tepla) než při vyšších teplotách (které jsou blíže vhodné inkubační teplotě), neboť náklady na znovu zahřátí snůšky v chladném období by byly příliš vysoké. Při vyšších venkovních teplotách naopak nedochází k tak rychlému poklesu teploty vajec a rodič se může věnovat jejich otáčení a úpravě hnízda. U čejky černoprse však vliv venkovní teploty prokázán nebyl. Pravděpodobně není nucena vzhledem k nepříliš nízkým venkovním teplotám tento problém řešit.

Opačná situace byla zjištěna u velikosti úhlu otočení. Ukázalo se, že při vyšších venkovních teplotách otáčela čejka černoprse vejce o větší úhel než při nižších teplotách. U čejky chocholaté tento vliv prokázán nebyl. Vzhledem k výše zmíněným negativním vlivům inkubace při vysokých teplotách, lze spekulovat, že při vyšších teplotách je vhodné z nějakého důvodu častější otáčení vajec. To je však v kontrastu s negativním vlivem častého odkrývání vajec a narušování mikroklimatu hnízda. Ptáci mohou tuto situaci řešit výraznějším otočením vajec. Samotná manipulace s vejcem může tedy vyvažovat jiné negativní vlivy. Deeming (1989b) ukázal, že vliv nízkých teplot na líhnivost vajec lze kompenzovat právě otáčením.

Změna velikosti úhlu otočení či počtu manipulací se jeví jako dvě odlišné strategie, jak se vyrovnávat se změnami venkovních teplot a je možné, že obě mohou vést k podobným výsledkům.

## 5.4 Mezidruhová variabilita v teplotě a otáčení vejce

Teplota vajec naměřená v této práci byla mezi druhy prokazatelně odlišná. Inkubační teplota byla u čejky černoprse ve dne i v noci vyšší ve srovnání s čejkou chocholatou. Zůstává otázkou, zda jde o metabolickou nutnost nebo důsledek extrémního klimatu (venkovní teploty). Rozdíl mezi oběma příbuznými druhy čejek je tedy zřejmý a pouze studium dalších druhů v různých částech světa a



v různých prostředích může prokázat, zda existuje např. klimaticky podmíněný latitudinální gradient v optimálním nastavení parametrů inkubace vajec, zajišťující maximální líhnivost vajec.

Za zmínku stojí fakt, že rozmezí teplot naměřené při přirozené inkubaci v této studii i jiných výzkumech s podobnou metodikou se pohybuje mezi 30–40 °C napříč druhy (Příloha 8). K identickému rozmezí došel též Webb (1987) ve své souhrnné práci. Tyto výsledky jsou stále v kontrastu s praktickými doporučeními pro umělý odchov, např.: 36–38 °C (Miesler and Mieslerová, 2005).

Vejce bylo otáčeno v rozmezí 1–5 manipulací za hodinu u všech studovaných druhů. Taylor et al. (2018) zjistili, že intenzita otáčení není ovlivněna taxonomickou příslušností. I příbuzné druhy mohou mít zcela jinou intenzitu otáčení (Příloha 9), což podporuje i tato studie. Jako vhodnější ukazatel intenzity otáčení pro druhy které dosud nebyly zkoumány se jeví podíl bílku ve vejci (Taylor et al., 2018). Tato data však pro čejku černoprsoú nejsou dostupná a nelze tedy hypotézu podpořit. Ovšem při srovnání dat z odlišných studií na stejných druzích (Clatterbuck et al., 2017; Shaffer et al., 2014) je patrné, že je zde výrazná vnitrodruhová variabilita. Z výsledků této práce navíc vyplývá, že otáčení vajec ovlivňuje mnoho dalších faktorů kromě druhové příslušnosti, například venkovní teplota.

## 6 SHRnutí A Závěr

S použitím laboratorního experimentu i terénního měření byly studovány podmínky inkubace u dvou druhů čejek – temperátní a subtropické. Práce byla zaměřena na dva hlavní procesy ovlivňující kvalitu inkubace vajec – inkubační teplotu a otáčení vajec. Bylo prokázáno, že tyto procesy jsou ovlivňovány rodiči i okolním prostředím.

Laboratorní experiment sledoval vliv výstelky na teplotu vejce u čejky černoprsé (*Vanellus indicus*), která na (sub)tropických hnízdištích čelí riziku přehřátí vajec. Bylo zjištěno, že růst teploty ve vejci závisí na typu substrátu, na kterém jsou vejce zahřívána. Nejefektivnější (nejvíce tlumící rychlý růst teploty za horka) se z hlediska termoregulace ukázala výstelka z hnízda, na které rostla teplota vejce relativně nejpomaleji. Jako nejhorší substrát pro hnízdění při vysokých venkovních teplotách se ukázal pouštní písek. Ani materiál dostupný v okolí daného hnízda neměl tak vhodné termoregulační vlastnosti jako výstelka z reálných hnízd. Při analýze složení výstelek se ukázal jako nejdůležitější ukazatel podíl kamenů ve výstelce. Vyšší podíl kamenů měl za následek zpomalení růstu vnitřní teploty ve vejci. Vliv ostatních složek detekovaných ve výstelce nebyl prokázán. Lze předpokládat, že ptáci při výběru materiálu pro hnízdní výstelku selektivně vybírají vhodný materiál, který dokáže částečně regulovat růst teploty v hnízdě.

Povrchová teplota vajec se nelišila v závislosti na konkrétním substrátu, na kterém byla vejce zahřívána, pravděpodobně však byla ovlivněna individuálními vlastnostmi vejce. Růst povrchové teploty výstelky se prokazatelně lišil od zbylých dvou substrátů. Zajímavé je především to, že se neprokával rozdíl mezi povrchovými teplotami dostupného materiálu z okolí a písku. Z výsledků tohoto experimentu vyplývá, že čejka černoprsá volí materiál do hnízda na základě jeho termoregulačních vlastností, které mohou zpomalit zahřívání vajec při extrémně vysokých venkovních teplotách. Střed vejce při zahřívání vykazoval v daný okamžik vždy nejnižší teplotu a růst teploty v závislosti na zahřívání byl nejpomalejší. To ukazuje, že samotné vejce dokáže výrazně tlumit vliv extrémních teplot prostředí na vnitřek vejce, a že tomu pravděpodobně velmi výrazně napomáhá skořápka a její zabarvení.

V další části práce probíhal terénní sběr dat z hnízd dvou druhů čejek – čejky chocholaté (*Vanellus vanellus*) v temperátu a čejky černoprsé (*Vanellus indicus*) v subtropicech. K tomu bylo použito měřící vejce zaznamenávající teplotu a otáčení, které bylo umísťováno do hnízd studovaných druhů. Průměrná teplota vejce dosahovala u čejky chocholaté ve dne  $32,84 \pm 3,1$  °C (s.d.) a v noci  $32,05 \pm 3,0$  °C (s.d.). U čejky černoprsé byla ve dne naměřena teplota  $36,16 \pm 2,2$  °C (s.d.) a v noci  $34,2 \pm 1,7$  °C (s.d.). Teplota naměřená ve vejci (minimální, maximální i průměrná) měla denní rytmicitu a byl zde dobře patrný výše uvedený rozdíl mezi dnem a nocí. Docházelo pravidelně k nárůstu teploty ve vejci mezi 12. a 18. hodinou (u č. černoprsé mezi 10. a 18. hodinou), v této nejteplejší části dne byl i nejmenší rozdíl mezi minimální a maximální teplotou ve vejci. Dále bylo zjištěno, že teplota ve vejci průkazně roste s rostoucí venkovní teplotou u obou studovaných druhů. Vliv venkovní teploty byl nejvíce patrný u minimální teploty ve vejci ležícím na výstelce.

Minimální teplota ve vejci (teplota v místě kontaktu s výstelkou) byla u čejky chocholaté prokazatelně ovlivněna objemem výstelky. Nejnižší teploty ve vejci byly naměřeny u hnízd s nejmenší výstelkou (a také u hnízda s velkou výstelkou ve výrazně podmáčeném prostředí), naopak nejvyšší teploty byly naměřeny v hnízdech s největší výstelkou. Vliv podílu kamenů ve výstelce čejky černoprsé

na teplotu ve vejci se oproti předchozímu laboratornímu experimentu neprokázal. Teplota ve vejci nebyla ovlivněna fází inkubace u žádného z druhů, to však může souviset s malým vzorkem dat. Mezi inkubačními teplotami naměřenými u obou druhů byl prokazatelný rozdíl, je však otázkou, zda byl způsoben odlišným klimatem či metabolickou nutností zahřívát embrya v daném rozmezí teplot pro jejich optimální vývoj.

Oba druhy čejek otáčely vejce nejčastěji o menší úhel ( $10^\circ$ ). Čejka chocholátá otáčela vejce během dne průměrně  $2,00 \pm 1,1$  (s.d.) otáček za hodinu a během noci  $1,02 \pm 1,01$  (s.d.) otáček za hodinu. Čejka černoprská manipulovala s vejcem průměrně  $0,93 \pm 0,50$  (s.d.) za hodinu během dne a  $0,73 \pm 0,53$  (s.d.) za hodinu během noci. Také absolutní úhel, o který bylo vejce otočeno za hodinu, se u obou druhů lišil mezi dnem a nocí. Frekvence manipulací s vejcem byla u čejky chocholáté ovlivněna venkovní teplotou; čím byla venkovní teplota vyšší, tím častěji bylo s vejcem manipulováno. To může být vysvětleno nutností kontinuálnější inkubace (bez otáčení) při nižších teplotách. U čejky černoprské byl prokázán vliv venkovní teploty na velikost úhlu otočení vejce při jedné manipulaci. Čím vyšší byla venkovní teplota, tím větší byl úhel otočení vejce. Neprojevila se denní rytmicita otáčení ani vliv výstelky či fáze inkubace na intenzitu otáčení. Frekvence otáčení vajec u ptáků se tedy liší i mezi příbuznými druhy a pravděpodobně není druhově specifická. Je teoreticky možné, že jde spíše o způsob, jakým se lze vyrovnávat s nepřízní okolních podmínek.

Tyto výsledky ukazují, že ačkoliv se u obou druhů na inkubaci podílejí oba rodiče, nejsou schopni zajistit konstantní podmínky po celou dobu inkubace a vejce jsou přirozeně vystavena velkému rozmezí teplot ( $13\text{--}39^\circ\text{C}$  u čejky chocholáté a  $20\text{--}48^\circ\text{C}$  u čejky černoprské). Méně významným, avšak přesto ovlivňujícím způsobem, jak se přiblížit k optimálním podmínkám v hnízdě, je volba vhodné výstelky hnízdního důlku, která může tlumit vlivy okolí a pomáhat udržovat vhodnou inkubační teplotu především během nepřítomnosti rodičů na hnízdě a snižovat tak alespoň částečně náklady rodičů při inkubaci snůšky. V kombinaci s režimem otáčení vajec v hnízdě může jít o důležité a vzájemně propojené behaviorální adaptace pro zvýšení líhnivosti ptačích vajec.

Lze spekulovat o možném pozitivním vlivu teplotních výkyvů během celé inkubace či pouze v rámci dne na postnatální vývoj jedince. Zjištěný režim inkubační teploty v této práci (i v jiných pracích) je v rozporu s obecně používaným přístupem při umělém odchovu a inkubaci ptáků, kde jsou využívány konstantní nastavení teplot kolem  $37^\circ\text{C}$  a pravidelné otáčení vajec. V současné době není uspokojivě prozkoumáno, jaký vliv může mít tato standardně užívaná uniformní inkubace v umělých líhních na vývoj projevů chování souvisejících s denní rytmicitou uměle odchovaných jedinců, případně na jejich přežívání a reprodukční úspěch.

## 7 POUŽITÁ LITERATURA

- Ackerman, J.T., and Eagles-Smith, C.A. (2010). Accuracy of Egg Flotation Throughout Incubation to Determine Embryo Age and Incubation Day in Waterbird Nests. *The Condor* 112, 438–446.
- Adams, N.J., Kerley, G.I.H., and Watson, J.J. (1999). Disturbance of incubating African Black Oystercatchers: is heating of exposed eggs a problem? *Ostrich* 70, 225–228.
- Alberico, J. (1995). Floating Eggs to Estimate Incubation Stage Does Not Affect Hatchability. *Wildlife Society Bulletin* 23, 212–216.
- AlRashidi, M., Kosztolányi, A., Küpper, C., Cuthill, I.C., Javed, S., and Székely, T. (2010). The influence of a hot environment on parental cooperation of a ground-nesting shorebird, the Kentish plover *Charadrius alexandrinus*. *Frontiers in Zoology* 7, 1.
- AlRashidi, M., Kosztolányi, A., Shobrak, M., Küpper, C., and Székely, T. (2011). Parental cooperation in an extreme hot environment: natural behaviour and experimental evidence. *Animal Behaviour* 82, 235–243.
- Amat, J.A., and Masero, J.A. (2007). The functions of belly-soaking in Kentish Plovers *Charadrius alexandrinus*. *Ibis* 149, 91–97.
- Amat, J.A., and Masero, J.A. (2009). Belly-soaking: a behavioural solution to reduce excess body heat in the Kentish plover *Charadrius alexandrinus*. *Journal of Ethology* 27, 507–510.
- Amat, J.A., Monsoa, R., and Masero, J.A. (2012). Dual function of egg-covering in the Kentish plover *Charadrius alexandrinus*. *Behaviour* 149, 881–895.
- Amundsen, T., and Slagsvold, T. (1991). Asynchronous Hatching in the Pied Flycatcher: An Experiment. *Ecology* 72, 797–804.
- Ardia, D.R., Pérez, J.H., and Clotfelter, E.D. (2010). Experimental cooling during incubation leads to reduced innate immunity and body condition in nestling tree swallows. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277, 1881–1888.
- Arnold, T.W. (1993). Factors affecting egg viability and incubation time in prairie dabbling ducks. *Canadian Journal of Zoology* 71, 1146–1152.
- Baines, D. (1990). The Roles of Predation, Food and Agricultural Practice in Determining the Breeding Success of the Lapwing (*Vanellus vanellus*) on Upland Grasslands. *Journal of Animal Ecology* 59, 915–929.
- Bakken, G.S., Vanderbilt, V.C., Buttemer, W.A., and Dawson, W.R. (1978). Avian Eggs: Thermoregulatory Value of Very High Near-Infrared Reflectance. *Science* 200, 321–323.
- Barott, H.G. (1937). Effect Of Temperature, Humidity, And Other Factors On Hatch Of Hens' Eggs And On Energy Metabolism Of Chick Embryos. *USDA Technical Bulletin No. 553*, 1–46.
- Batt, B.D.J., and Cornwell, G.W. (1972). The Effects of Cold on Mallard Embryos. *The Journal of Wildlife Management* 36, 745–751.

Beaulieu, M., Thierry, A.-M., Handrich, Y., Massemin, S., Le Maho, Y., and Ancel, A. (2010). Adverse effects of instrumentation in incubating Adélie penguins (*Pygoscelis adeliae*). *Polar Biology* 33, 485–492.

Berg, M.L., Beintema, N.H., Welbergen, J.A., and Komdeur, J. (2006). The functional significance of multiple nest-building in the Australian Reed Warbler *Acrocephalus australis*. *Ibis* 148, 395–404.

BirdLife International 2016. *Vanellus indicus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T22694013A89569039. Dostupné na: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T22694013A89569039.en>. [Cit. 2.4.2020]

BirdLife International 2017. *Vanellus vanellus* (amended version of 2016 assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2017: e.T22693949A111044786. Dostupné na: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-1.RLTS.T22693949A111044786.en>. [Cit. 2.4.2020]

Blanco, G., and Bertellotti, M. (2002). Differential predation by mammals and birds: implications for egg-colour polymorphism in a nomadic breeding seabird. *Biological Journal of the Linnean Society* 75, 137–146.

Bollinger, P.B., Bollinger, E.K., and Malecki, R.A. (1990). Tests of Three Hypotheses of Hatching Asynchrony in the Common Tern. *The Auk* 107, 696–706.

Bosque, C., and Bosque, M.T. (1995). Nest Predation as a Selective Factor in the Evolution of Developmental Rates in Altricial Birds. *The American Naturalist* 145, 234–260.

Boulton, R.L., and Cassey, P. (2012). How avian incubation behaviour influences egg surface temperatures: relationships with egg position, development and clutch size. *Journal of Avian Biology* 43, 289–296.

Brouwer, L., and Komdeur, J. (2004). Green nesting material has a function in mate attraction in the European starling. *Animal Behaviour* 67, 539–548.

Bruzual, J.J., Peak, S.D., Brake, J., and Peebles, E.D. (2000). Effects of relative humidity during incubation on hatchability and body weight of broiler chicks from young breeder flocks. *Poultry Science* 79, 827–830.

Brynychová K., Vozabulová E., Šálek M., Sládeček M. (2020). Daily rhythms of female self-maintenance correlate with male nest attendance in a biparental shorebird. *Journal of Biological Rhythms*, in press.

Bulla, M., Valcu, M., Dokter, A.M., Dondua, A.G., Kosztolányi, A., Rutten, A., Helm, B., Sandercock, B.K., Casler, B., Ens, B.J., Spiegel, C.S., Hassell, C.J., Küpper, C., Minton, C., Burgas, D., Lank, D.B., Payer, D.C., Loktionov, E.Y., Nol, E., Kwon, E., Smith, F., Gates, H.R., Vitnerová, H., Prüter, H., Johnson, J.A., St Clair, J.J.H., Lamarre, J.F., Rausch, J., Reneerkens, J., Conklin, J.R., Burger, J., Liebezeit, J., Bêty, J., Coleman, J.T., Figuerola, J., Hooijmeijer, J.C.E.W., Alves, J.A., Smith, J.A.M., Weidinger, K., Koivula, K., Gosbell, K., Niles, L., Koloski, L., McKinnon, L., Praus, L., Klaassen, M., Giroux, M.-A., Sládeček, M., Boldenow, M.L., Exo, M., Goldstein, M.I., Šálek, M., Senner, N., Rönkä, N., Lecomte, N., Gilg, O., Vincze, O., Johnson, O.W., Smith, P.A., Woodard, P.F., Tomkovich, P.S., Battley, P., Bentzen, R., Lanctot, R.B., Porter, R., Saalfeld, S.T., Freeman, S., Brown, S.C., Yezerinac, S., Székely, T., Piersma, T., Montalvo, T., Lortie, V., Pakanen, V.M., Tijssen, W., and Kempenaers, B. (2016). Unexpected diversity in socially synchronized rhythms of shorebirds. *Nature* 540, 109–113.

Clatterbuck, C.A., Young, L.C., VanderWerf, E.A., Naiman, A.D., Bower, G.C., and Shaffer, S.A. (2017). Data loggers in artificial eggs reveal that egg-turning behavior varies on multiple ecological scales in seabirds. *The Auk* 134, 432–442.

Clayton, D.H., and Cotgreave, P. (1994). Comparative Analysis of Time Spent Grooming By Birds in Relation To Parasite Load. *Behaviour* 131, 171–187.

Colleen T. Downs, and David Ward (1997). Does Shading Behavior of Incubating Shorebirds in Hot Environments Cool the Eggs or the Adults? *The Auk* 114, 717–724.

Collins, K.E., Jordan, B.J., McLendon, B.L., Navara, K.J., Beckstead, R.B., and Wilson, J.L. (2013). No evidence of temperature-dependent sex determination or sex-biased embryo mortality in the chicken. *Poultry Science* 92, 3096–3102.

Cresswell, W., Holt, S., Reid, J.M., Whitfield, D.P., and Mullanby, R.J. (2003). Do energetic demands constrain incubation scheduling in a biparental species? *Behavioral Ecology* 14, 97–102.

Cuttriss, A., Maguire, G.S., Ehmke, G., and Weston, M.A. (2015). Breeding habitat selection in an obligate beach bird: a test of the food resource hypothesis. *Marine and Freshwater Research* 66, 841–846.

D’Alba, L., Monaghan, P., and Nager, R.G. (2009). Thermal benefits of nest shelter for incubating female eiders. *Journal of Thermal Biology* 34, 93–99.

Deeming, C. (2002). *Avian incubation: behaviour, environment and evolution* (Oxford: Oxford University Press).

Deeming, D.C. (1989a). Failure to turn eggs during incubation: Development of the area vasculosa and embryonic growth. *Journal of Morphology* 201, 179–186.

Deeming, D.C. (1989b). Characteristics of unturned eggs: Critical period, retarded embryonic growth and poor albumen utilisation. *British Poultry Science* 30, 239–249.

Deeming, D.C. (2011). Importance of Nest Type on the Regulation of Humidity in Bird Nests. *Avian Biology Research* 4, 23–31.

Deeming, D.C., and Reynolds, S.J. (2015). *Nests, Eggs, and Incubation: New ideas about avian reproduction* (Oxford: Oxford University Press).

DuRant, S.E., Hopkins, W.A., Hepp, G.R., and Walters, J.R. (2013). Ecological, evolutionary, and conservation implications of incubation temperature-dependent phenotypes in birds. *Biological Reviews* 88, 499–509.

Edwards, C.L. (1902). The physiological zero and the index of development for the egg of the domestic fowl, *gallus domesticus*. *American Journal of Physiology-Legacy Content* 6, 351–397.

Elibol, O., and Brake, J. (2004). Identification of critical periods for turning broiler hatching eggs during incubation. *British Poultry Science* 45, 631–637.

Elibol, O., and Brake, J. (2006a). Effect of egg turning angle and frequency during incubation on hatchability and incidence of unhatched broiler embryos with head in the small end of the egg. *Poultry Science* 85, 1433–1437.

Elibol, O., and Brake, J. (2006b). Effect of flock age, cessation of egg turning, and turning frequency through the second week of incubation on hatchability of broiler hatching eggs. *Poultry Science* 85, 1498–1501.

Esri, HERE, Garmin, Increment P, © OpenStreetMap contributors. World Light Gray Base [podkladová mapa]. Vytvořeno.29. 9. 2011. Poslední aktualizace 9.1.2020. Dostupné na: <https://services.arcgisonline.com/...ver> [Cit. 1. 6. 2020]

Esri, HERE, Garmin, Intermap, Increment P, GEBCO, USGS, FAO, NPS, NRCAN, GeoBase, IGN, Kadaster NL, Ordnance Survey, Esri Japan, METI, Esri China (Hong Kong), © OpenStreetMap contributors. World Topographic map [podkladová mapa]. Vytvořeno 14. 6. 2013. Poslední aktualizace 21. 5. 2020. Dostupné na: <https://services.arcgisonline.com/...ver> [Cit. 1. 6. 2020]

Eycleshymer, A.C. (1907). Some observations and experiments on the natural and artificial incubation of the egg of the common fowl. *The Biological Bulletin* 12, 360–374.

Funk, E.M., and Biellier, H.V. (1944). The minimum temperature for embryonic development in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Poultry Science* 23, 538–540.

Funk, E.M., and Forward, J. (1953). The effect of angle of turning eggs during incubation on hatchability (University of Missouri, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station).

Gee, G.F., Hatfield, J.S., and Howey, P.W. (1995). Remote monitoring of parental incubation conditions in the greater sandhill crane. *Zoo Biology* 14, 159–172.

Gillings, S., and Sutherland, W.J. (2007). Comparative Diurnal and Nocturnal Diet and Foraging in Eurasian Golden Plovers *Pluvialis apricaria* and Northern Lapwings *Vanellus vanellus* Wintering on Arable Farmland. *Ardea* 95, 243–257.

Gómez, J., Pereira, A.I., Pérez-Hurtado, A., Castro, M., Ramo, C., and Amat, J.A. (2016). A trade-off between overheating and camouflage on shorebird eggshell colouration. *Journal of Avian Biology* 47, 346–353.

Gómez, J., Ramo, C., Troschianko, J., Stevens, M., Castro, M., Pérez-Hurtado, A., Liñán-Cembrano, G., and Amat, J.A. (2018). Individual egg camouflage is influenced by microhabitat selection and use of nest materials in ground-nesting birds. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 72, 142.

Graul, W.D. (1975). Breeding Biology of the Mountain Plover. *The Wilson Bulletin* 87, 6–31.

Haftorn, S. (1981). Incubation during the Egg-Laying Period in Relation to Clutch-Size and Other Aspects of Reproduction in the Great Tit *Parus major*. *Ornis Scandinavica* (Scandinavian Journal of Ornithology) 12, 169–185.

Hahn, D.C. (1981). Asynchronous hatching in the laughing gull: Cutting losses and reducing rivalry. *Animal Behaviour* 29, 421–427.

Hanssen, S.A., Hasselquist, D., Folstad, I., and Erikstad, K.E. (2005). Cost of reproduction in a long-lived bird: incubation effort reduces immune function and future reproduction. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272, 1039–1046.

Heenan, C.B., and Seymour, R.S. (2011). Structural support, not insulation, is the primary driver for avian cup-shaped nest design. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 278, 2924–2929.

Hilton, G.M., Hansell, M.H., Ruxton, G.D., Reid, J.M., and Monaghan, P. (2004). Using Artificial Nests to Test Importance of Nesting Material and Nest Shelter for Incubation Energetics. *The Auk* 121, 777–787.

Hoyo, J. del, Elliott, A., and Sargatal, J. (1996). *Handbook of the Birds of the World, Volume 3: Hoatzin to Auks* (Barcelona: Lynx Edicions).

Karakas, R. (2016). Status and Distribution of Red-wattled Lapwing *Vanellus indicus* (Boddaert, 1783) (Charadriiformes: Charadriidae) in Turkey. *Acta Zoologica Bulgarica* 68, 71–76.

- Kolářková, M., Prokůpková, L., Albrecht, T., and Hořák, D. (2015). Incubation Temperature Influences Trade-Off between Structural Size and Energy Reserves in Mallard Hatchlings. *Physiological and Biochemical Zoology* 88, 1–10.
- Kubelka, V., Zámečník, V., Slabeyová, K., Škorpíková, V., and Šálek, M. (2018). Threats and conservation of meadow-breeding shorebirds in the Czech Republic and Slovakia. *Wader Study* 125, 164–174.
- Kubelka, V., Sládeček, M., and Šálek, M. (2019). Great variability in nest lining size: support for thermoregulation but not for anti-predatory adaptation hypothesis. *Journal of Ornithology* 160, 993–1002.
- Lack, D. (1947). The Significance of Clutch-size. *Ibis* 89, 302–352.
- Lamprecht, I., and Schmolz, E. (2004). Thermal investigations of some bird nests. *Thermochimica Acta* 415, 141–148.
- Leonard, M.L., and Picman, J. (1987). The adaptive significance of multiple nest building by male marsh wrens. *Animal Behaviour* 35, 271–277.
- Livezey, B.C. (2010). Phylogenetics of modern shorebirds (Charadriiformes) based on phenotypic evidence: analysis and discussion. *Zoological Journal of the Linnean Society* 160, 567–618.
- Lomholt, J.P. (1976). Relationship of weight loss to ambient humidity of birds eggs during incubation. *Journal of comparative physiology* 105, 189–196.
- Mainwaring, M.C., and Hartley, I.R. (2013). The Energetic Costs of Nest Building in Birds. *Avian Biology Research* 6, 12–17.
- Mayer, P.M., Smith, L.M., Ford, R.G., Watterson, D.C., McCutchen, M.D., and Ryan, M.R. (2009). Nest construction by a ground-nesting bird represents a potential trade-off between egg crypticity and thermoregulation. *Oecologia* 159, 893–901.
- McClintock, M.E., Hepp, G.R., and Kennamer, R.A. (2014). Plasticity of incubation behaviors helps Wood Ducks (*Aix sponsa*) maintain an optimal thermal environment for developing embryos. *The Auk* 131, 672–680.
- McNally, E.H., and Byerly, T.C. (1936). Variation in the Development of Embryos of Hens' Eggs. *Poultry Science* 15, 280–283.
- Miesler, R., and Mieslerová, B. (2005). *Průvodce umělým odchovem ptáků* (Epava).
- Møller, A.P. (1987). Egg Predation as a Selective Factor for Nest Design: An Experiment. *Oikos* 50, 91–94.
- Møller, A.P. (1988). Nest Predation and Nest Site Choice in Passerine Birds in Habitat Patches of Different Size: A Study of Magpies and Blackbirds. *Oikos* 53, 215–221.
- Møller, A.P. (1990). Nest Predation Selects for Small Nest Size in the Blackbird. *Oikos* 57, 237–240.
- Moreno, J., Soler, M., Møller, A.P., and Linden, M. (1994). The function of stone carrying in the black wheatear, *Oenanthe leucura*. *Animal Behaviour* 47, 1297–1309.
- Muralidhar, A., and Barve, S. (2013). Peculiar choice of nesting of Red-wattled Lapwing *Vanellus indicus* in an urban area in Mumbai, Maharashtra. *Indian Birds* 8, 4.



- New, D. a. T. (1957). A Critical Period for the Turning of Hens' Eggs. *Development* 5, 293–299.
- Nichelmann, M., and Tzschentke, B. (1999). Thermoregulation in precocial avian embryos. *Ornis Fennica* 76, 177–188.
- Nisbet, I.C.T. (1983). Belly-Soaking by Incubating and Brooding Common Terns. *Journal of Field Ornithology* 54, 190–192.
- Olson, C.R., Vleck, C.M., and Vleck, D. (2006). Periodic cooling of bird eggs reduces embryonic growth efficiency. *Physiological and Biochemical Zoology* 79, 927–936.
- Paassen, A.G. van, Veldman, D.H., and Beintema, A.J. (1984). A simple device for determination of incubation stages in eggs. *Wildfowl* 35, 173–178.
- Pearson, J.T., Haque, M.A., Hou, P.-C.L., and Tazawa, H. (1996). Developmental patterns of O<sub>2</sub> consumption, heart rate and O<sub>2</sub> pulse in unturned eggs. *Respiration Physiology* 103, 83–87.
- Pešková, L. (2017). Vliv inkubační teploty na vývoj ptačího embrya. Bakalářská práce, (Praha: Univerzita Karlova).
- Piersma, T., Lindström, Å., Drent, R.H., Tulp, I., Jukema, J., Morrison, R.I.G., Reneerkens, J., Schekkerman, H., and Visser, G.H. (2003). High daily energy expenditure of incubating shorebirds on High Arctic tundra: a circumpolar study. *Functional Ecology* 17, 356–362.
- Piestun, Y., Shinder, D., Ruzal, M., Halevy, O., and Yahav, S. (2008a). The effect of thermal manipulations during the development of the thyroid and adrenal axes on in-hatch and post-hatch thermoregulation. *Journal of Thermal Biology* 33, 413–418.
- Piestun, Y., Shinder, D., Ruzal, M., Halevy, O., Brake, J., and Yahav, S. (2008b). Thermal manipulations during broiler embryogenesis: Effect on the acquisition of thermotolerance. *Poultry Science* 87, 1516–1525.
- Prince, H.H., Siegel, P.B., and Cornwell, G.W. (1969). Incubation Environment and the Development of Mallard Embryos. *The Journal of Wildlife Management* 33, 589–595.
- R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Ratchliffe, D.A. (1976). Observations on the Breeding of the Golden Plover in Great Britain. *Bird Study* 23, 63–116.
- Reid, J.M., Monaghan, P., and Ruxton, G.D. (2000). The consequences of clutch size for incubation conditions and hatching success in starlings. *Functional Ecology* 14, 560–565.
- Reid, J.M., Cresswell, W., Holt, S., Mellanby, R.J., Whitfield, D.P., and Ruxton, G.D. (2002). Nest scrape design and clutch heat loss in Pectoral Sandpipers (*Calidris melanotos*). *Functional Ecology* 16, 305–312.
- Reneerkens, J., Grond, K., Schekkerman, H., Tulp, I., and Piersma, T. (2011). Do Uniparental Sanderlings *Calidris alba* Increase Egg Heat Input to Compensate for Low Nest Attentiveness? *PLoS One* 6, e16834.
- Robertson, I.S. (1961). The influence of turning on the hatchability of hens' eggs I. The effect of rate of turning on hatchability. *The Journal of Agricultural Science* 57, 49–56.

Šálek, M. (1995). Změny ve velikosti snůšek a vajec u čejky chocholaté (*Vanellus vanellus*) v průběhu sezóny. *Sylvia* 31, 16–25.

Šálek, M.E., and Zárbynická, M. (2015). Different Temperature and Cooling Patterns at the Blunt and Sharp Egg Poles Reflect the Arrangement of Eggs in an Avian Clutch. *PLoS One* 10, e0117728.

Saxena, V.L., and Saxena, A.K. (2013). The Study of Nidification Behavior In Red Wattled Lapwings, *Vanellus indicus*. *Asian Journal of Experimental Sciences* 27, 17–21.

Schalkwyk, S.J.V., Cloete, S.W.P., Brown, C.R., and Brand, Z. (2000). Hatching success of ostrich eggs in relation to setting, turning and angle of rotation. *British Poultry Science* 41, 46–52.

Schwartz, A., Weaver, J.D., Scott, N.R., and Cade, T.J. (1977). Measuring the Temperature of Eggs during Incubation under Captive Falcons. *The Journal of Wildlife Management* 41, 12–17.

Sergio, F., Blas, J., Blanco, G., Tanferna, A., López, L., Lemus, J.A., and Hiraldo, F. (2011). Raptor Nest Decorations Are a Reliable Threat Against Conspecifics. *Science* 331, 327–330.

Sethi, V.K., Bhatt, D., Kumar, A., and Naithani, A.B. (2011). The hatching success of ground- and roof-nesting Red-wattled Lapwing *Vanellus indicus* in Haridwar, India. *Forktail* 27, 7–10.

Shaffer, S.A., Clatterbuck, C.A., Kelsey, E.C., Naiman, A.D., Young, L.C., VanderWerf, E.A., Warzybok, P., Bradley, R., Jahncke, J., and Bower, G.C. (2014). As the Egg Turns: Monitoring Egg Attendance Behavior in Wild Birds Using Novel Data Logging Technology. *PLoS One* 9, e97898.

Shrubb, M. (2010). *The Lapwing* (Bloomsbury Publishing).

Sládeček, M., Vozabulová, E., Šálek, M.E., and Bulla, M. (2019). Diversity of incubation rhythms in a facultatively uniparental shorebird – the Northern Lapwing. *Scientific Reports* 9, 1–11.

Slagsvold, T., and Lifjeld, J.T. (1988). Ultimate Adjustment of Clutch Size to Parental Feeding Capacity in a Passerine Bird. *Ecology* 69, 1918–1922.

Stoleson, S.H., and Beissinger, S.R. (1999). Egg viability as a constraint on hatching synchrony at high ambient temperatures. *Journal of Animal Ecology* 68, 951–962.

Sunrise-and-sunset.com, 2018-2020: Sunrise and sunset Dubai, United Arab Emirates. Dostupné na: <https://www.sunrise-and-sunset.com/en/sun/united-arab-emirates/dubai> [Cit. 10.4.2020]

Sunrise-and-sunset.com, 2018-2020: Sunrise and sunset České Budějovice, Czech Republic. Dostupné na: <https://www.sunrise-and-sunset.com/en/sun/czech-republic/ceske-budejovice> [Cit. 10.4.2020].

Székely, T., and Szentirmai, I. (2002). Do kentish plovers regulate the amount of their nest material? an experimental test. *Behaviour* 139, 847–859.

Tarboton, W. (1984). Behavior of the African Peregrine during incubation. *Raptor Research* 18, 131–136.

Taylor, G.T., Ackerman, J.T., and Shaffer, S.A. (2018). Egg turning behavior and incubation temperature in Forster's terns in relation to mercury contamination. *PLoS One* 13, e0191390.

Tona, K., Onagbesan, O., Bruggeman, V., Mertens, K., and Decuypere, E. (2005). Effects of turning duration during incubation on embryo growth, utilization of albumen, and stress regulation. *Poultry Science* 84, 315–320.

Tullett, S.G., and Deeming, D.C. (1987). Failure to turn eggs during incubation: effects on embryo weight, development of the chorioallantois and absorption of albumen. *British Poultry Science* 28, 239–249.

Tulp, I., and Schekkerman, H. (2006). Time allocation between feeding and incubation in uniparental arctic-breeding shorebirds: energy reserves provide leeway in a tight schedule. *Journal of Avian Biology* 37, 207–218.

Tulp, I., Schekkerman, H., and de Leeuw, J. (2012). Eggs in the Freezer: Energetic Consequences of Nest Site and Nest Design in Arctic Breeding Shorebirds. *PLoS One* 7, e38041.

Tzschentke, B., and Basta, D. (2002). Early development of neuronal hypothalamic thermosensitivity in birds: influence of epigenetic temperature adaptation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 131, 825–832.

Varney, J.R., and Ellis, D.H. (1974). Telemetering Egg for Use in Incubation and Nesting Studies. *The Journal of Wildlife Management* 38, 142–148.

Verner, J. (1965). Breeding Biology of the Long-Billed Marsh Wren. *The Condor* 67, 6–30.

Vleck, C., and Kenagy, G. (1980). Embryonic Metabolism of the Fork-Tailed Storm Petrel - Physiological Patterns During Prolonged and Interrupted Incubation. *Physiological Zoology* 53, 32–42.

Wada, H., Kriengwatana, B., Allen, N., Schmidt, K.L., Soma, K.K., and MacDougall-Shackleton, S.A. (2015). Transient and permanent effects of suboptimal incubation temperatures on growth, metabolic rate, immune function and adrenocortical responses in zebra finches. *Journal of Experimental Biology* 218, 2847–2855.

Walsberg, G.E. (1983). A Test for Regulation of Nest Humidity in Two Bird Species. *Physiological Zoology* 56, 231–235.

Webb, D. (1987). Thermal Tolerance of Avian Embryos - a Review. *The Condor* 89, 874–898.

Westerskov, K. (1950). Methods for Determining the Age of Game Bird Eggs. *The Journal of Wildlife Management* 14, 56–67.

Whittingham, M.J., Percival, S.M., and Brown, A.F. (2002). Nest-site selection by golden plover: why do shorebirds avoid nesting on slopes? *Journal of Avian Biology* 33, 184–190.

Zach, R. (1982). Hatching Asynchrony, Egg Size, Growth, and Fledging in Tree Swallows. *The Auk* 99, 695–700.

## PŘÍLOHY

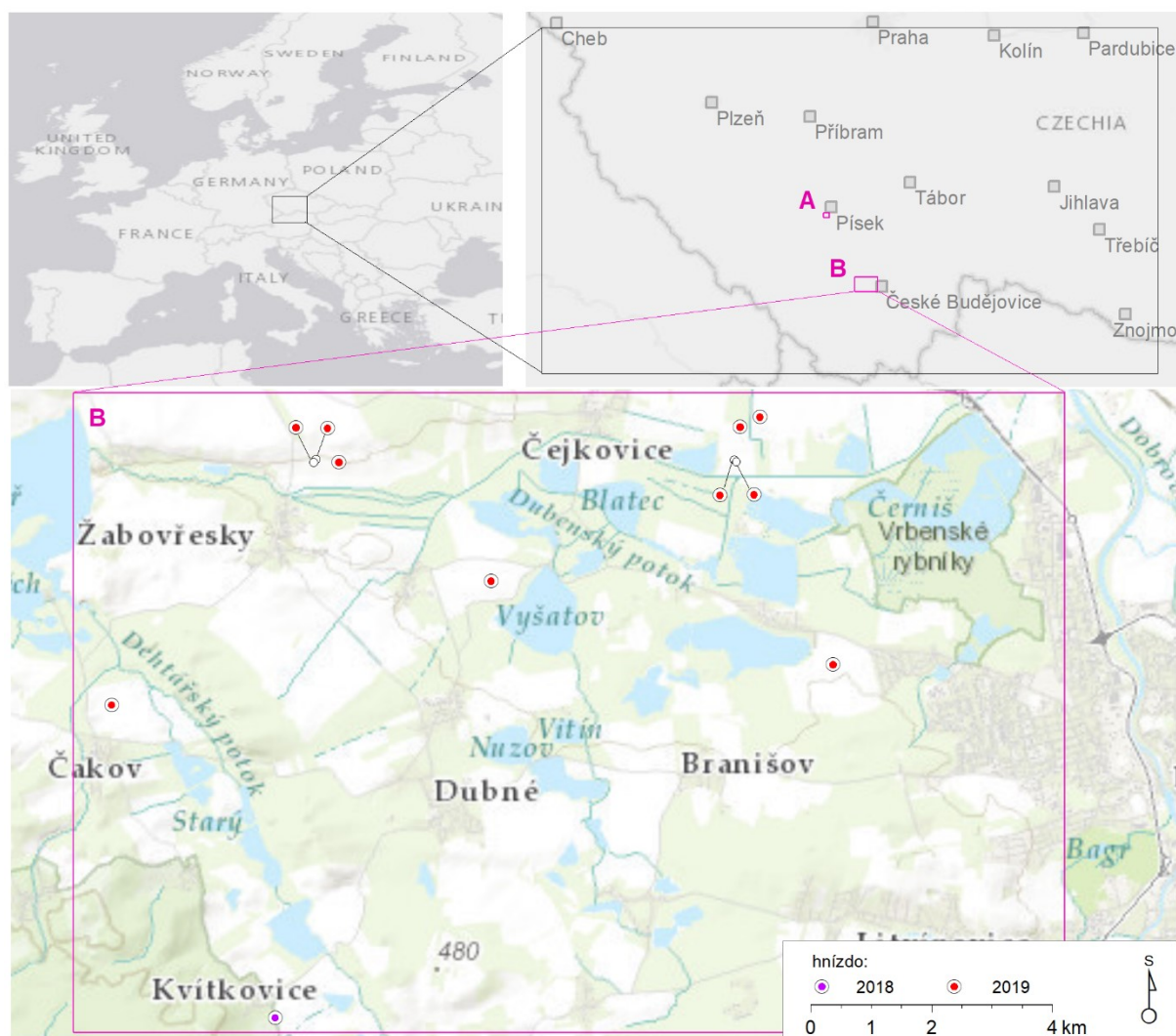
Příloha 1: Zastoupení jednotlivých složek v testovaných výstelkách

ID hnízda	Slope	Použitá výstelka (g)	Rostlinná složka (g)	Ostatní organický materiál (g)	Kameny (g)	Neroztříděný materiál (g)
3	435,12	50,00	1,20	17,00	31,50	0,40
5	722,80	25,90	13,30	0,20	9,50	2,80
6	381,70	50,00	17,70	0,00	31,20	0,50
9	899,90	50,00	4,50	3,20	39,60	2,30
14	597,26	50,00	0,20	4,30	33,90	11,50
17	758,40	50,00	0,50	0,50	34,00	14,90
19	669,88	35,00	0,00	10,10	18,30	6,60
21	547,86	50,00	0,30	0,40	49,00	0,20
22	632,53	50,00	3,50	2,40	35,10	8,40
24	575,87	50,00	3,50	5,90	35,60	4,80
26	1110,00	9,40	5,60	0,80	1,40	1,00
30	752,65	40,70	0,20	14,40	19,40	6,40
34	520,05	50,00	3,90	12,40	32,80	0,60
35	572,90	50,00	0,20	3,20	43,50	2,60
36	879,25	50,00	0,20	0,00	40,10	9,40
37	712,96	50,00	11,70	25,10	1,70	10,70
45	622,89	50,00	0,70	3,00	45,80	0,60
49	450,50	39,00	1,40	4,40	11,10	22,20
51	319,91	50,00	0,30	0,00	41,60	7,40
52	675,06	50,00	0,10	0,00	21,30	28,10
55	492,71	42,10	0,20	27,50	16,50	0,40
136	734,03	37,60	0,00	0,40	16,10	21,00
169	1235,00	13,50	7,60	1,10	0,00	4,40
6X	762,00	50,00	2,90	2,10	44,60	0,00
Směrodatná odchylka	208,80	11,52	4,67	7,79	14,79	7,61

Příloha 2: Hnízda čejky chocholaté na Písecku, kde bylo umístěováno měřicí vejce v roce 2019 (Esri et al., 2011; Esri et al., 2013).

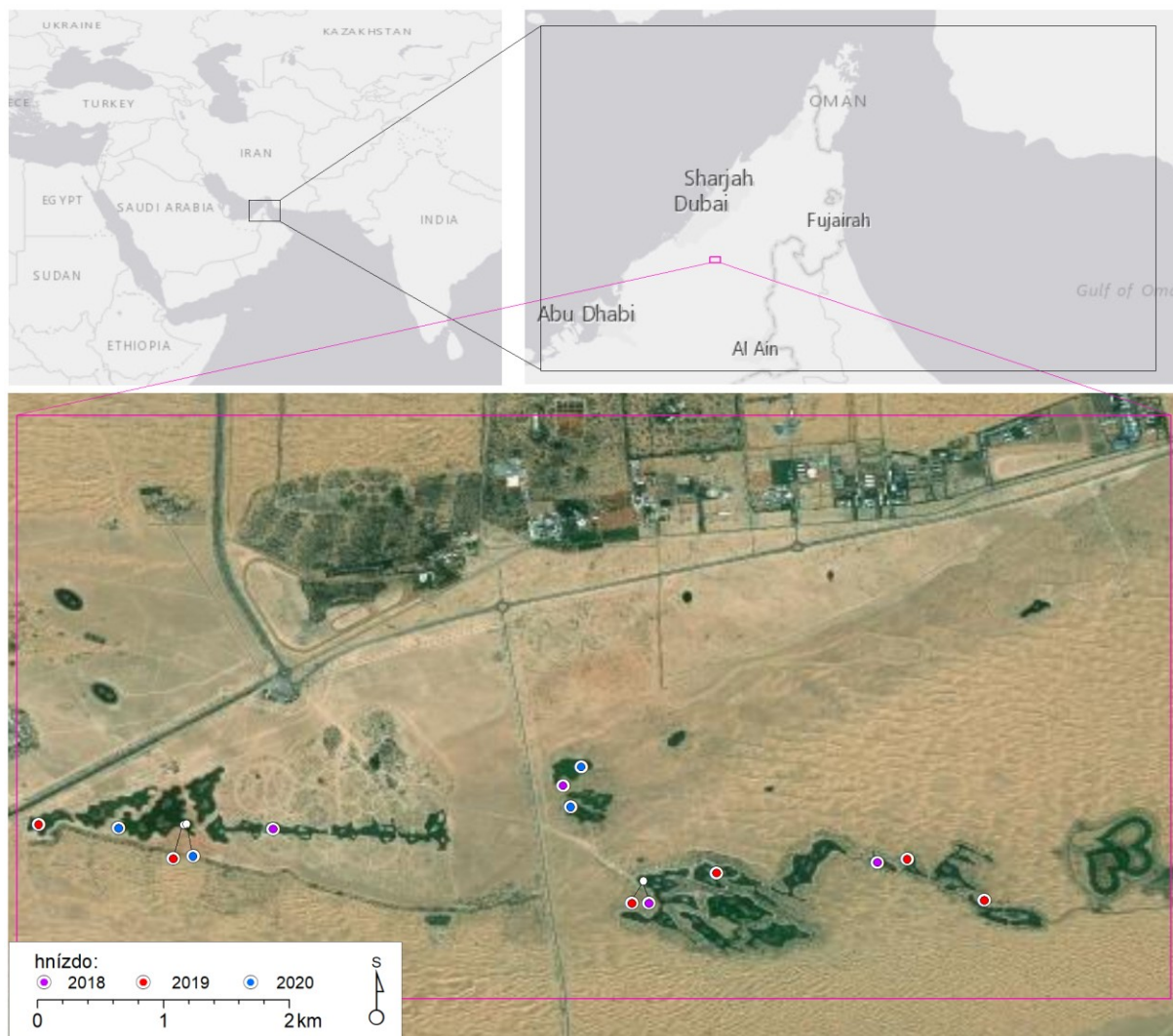


Příloha 3: Hnízda čejky chocholaté na českobudějovicku, kde bylo umístěováno měřící vejce v letech 2018, 2019 (Esri et al., 2011; Esri et al., 2013).





Příloha 4: Hnízda čejky černoprse v Al Marmoom, kde bylo umístěováno měřící vejce v letech 2018, 2019 a 2020 (Esri et al., 2011; Esri et al., 2013).

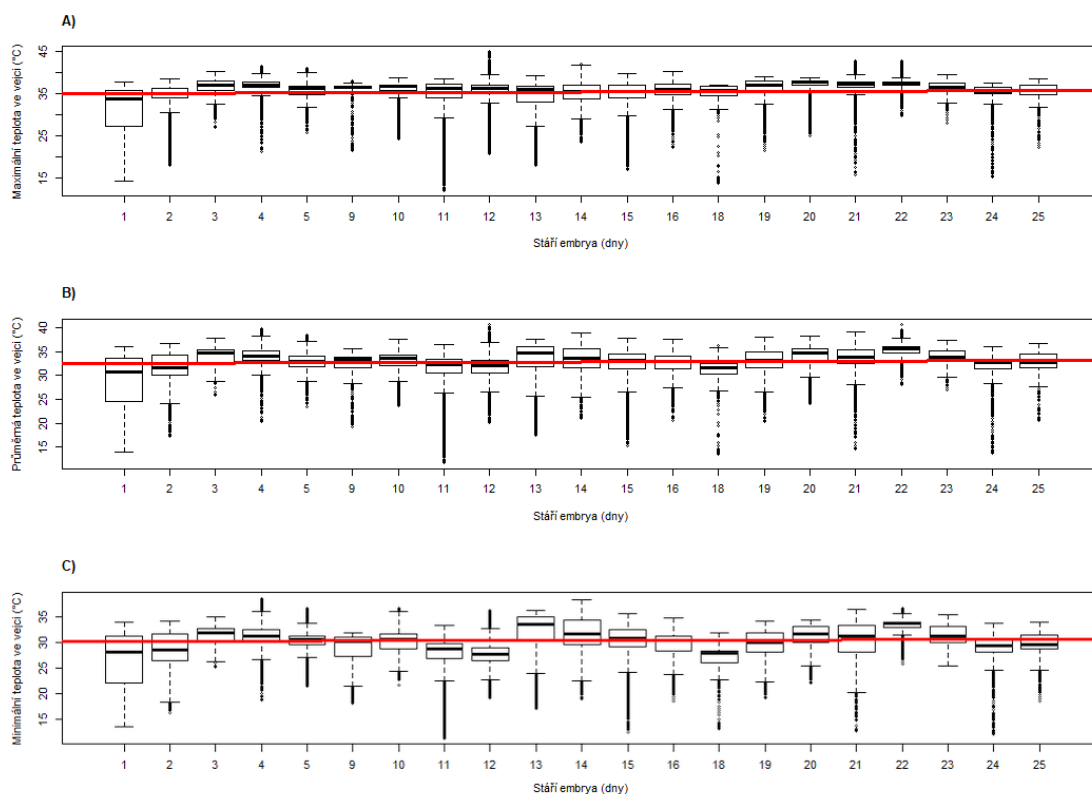


Příloha 5: Rozměry vajec u čejky chocholaté, čejky černoprsé a měřicího vejce použitého při sběru dat u obou druhů. Hodnoty uvedeny  $\pm$  směrodatná odchylka.

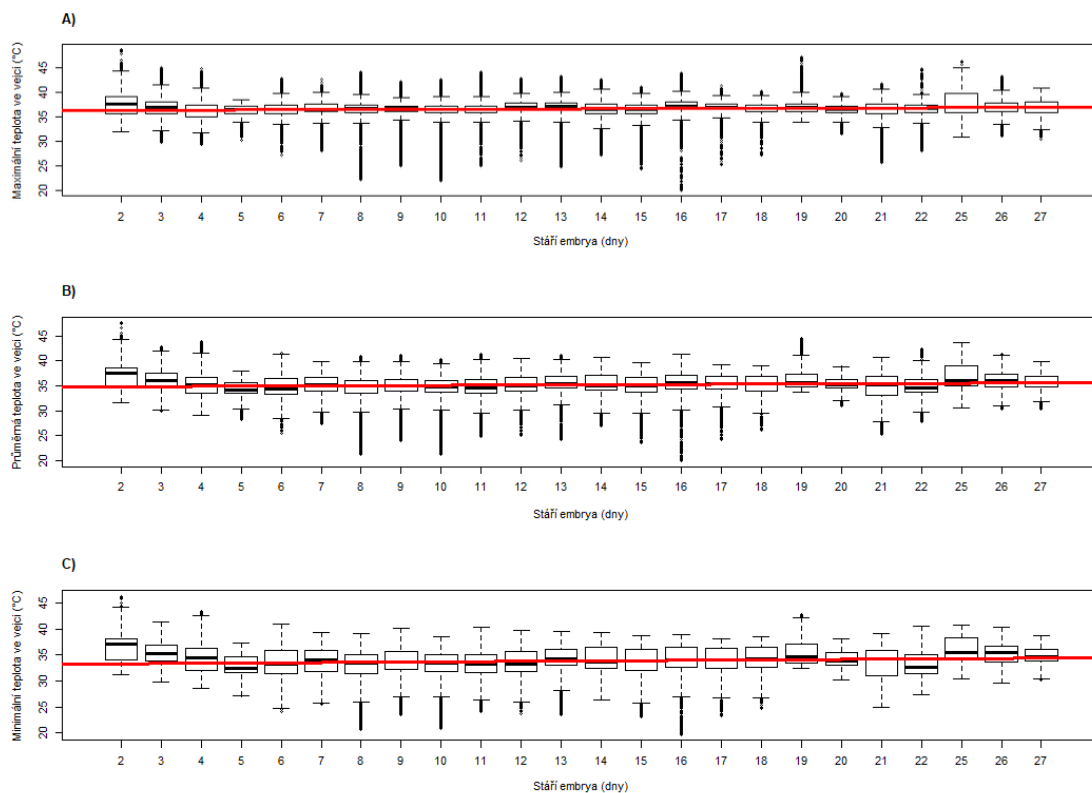
	Délka (mm)	Šířka (mm)	Objem (cm <sup>3</sup> )	Hmotnost (g)	Zdroj
Čejka chocholatá ( <i>Vanellus vanellus</i> )	46,46 $\pm$ 1,92	33,22 $\pm$ 0,89	23,47 $\pm$ 1,52	24,33 $\pm$ 2,71	(Šálek, 1995; Hegyi and Sasvari, 1998)
Čejka černoprsá ( <i>Vanellus indicus</i> )	41,81 $\pm$ 2,03	29,58 $\pm$ 1,33	16,78 $\pm$ 1,85	19,07 $\pm$ 1,39	(Šálek et al., nepublikovaná data; objem vypočten podle Galbraith, 1988)
Měřicí vejce použité u obou druhů	40,6	29,36	~15,43	20,5	Vlastní data



Příloha 6: Teploty ve vejci v průběhu inkubační doby u čejky chocholaté. A) Maximální naměřená teplota ve vejci, B) Průměrná naměřená teplota ve vejci, C) Minimální naměřená teplota ve vejci.



Příloha 7: Teploty ve vejci v průběhu inkubační doby u čejky černoprse. A) Maximální naměřená teplota ve vejci, B) Průměrná naměřená teplota ve vejci, C) Minimální naměřená teplota ve vejci.



Příloha 8: V tabulce jsou uvedeny průměrné teploty naměřené ve vejci v závislosti na druhu ve dne a v noci, hodnoty byly získány z této práce a ostatních prací s podobnou metodikou. Uveden průměr  $\pm$  směrodatná odchylka, není-li uvedeno jinak.

Druh	Teplota ve vejci (°C)		Zdroj
	Den	Noc	
čejka chocholátá ( <i>Vanellus vanellus</i> )	32,84 $\pm$ 3,1	32,05 $\pm$ 3,0	Vlastní data
čejka černoprská ( <i>Vanellus indicus</i> )	36,16 $\pm$ 2,2	34,2 $\pm$ 1,7	Vlastní data
raroh prériový ( <i>Falco mexicanus</i> )	34,9 $\pm$ 0,9	34,7 $\pm$ 0,9	(Schwartz et al., 1977)
sokol stěhovavý ( <i>Falco peregrinus</i> )	35,9 $\pm$ 0,6	35,6 $\pm$ 0,6	(Schwartz et al., 1977)
rybák Forsterův ( <i>Sterna forsteri</i> )	40,00 $\pm$ 2,4	38,9 $\pm$ 2,4	(Taylor et al., 2018)
albatros laysanský ( <i>Phoebastria immutabilis</i> )	37,9 $\pm$ 1,05	38,05 $\pm$ 0,9	(Shaffer et al., 2014)
racek západní ( <i>Larus occidentalis</i> )	39,2 $\pm$ 1,4	39,1 $\pm$ 1,3	(Shaffer et al., 2014)
alkoun aleutský ( <i>Ptychoramphus aleuticus</i> )	37,75 $\pm$ 1,4	37,75 $\pm$ 1,4	(Shaffer et al., 2014)
kur domácí ( <i>Gallus gallus</i> )	39,1 $\pm$ 0,3		(Eycleshymer, 1907)
kur domácí ( <i>Gallus gallus</i> ) - konec inkubace	39,7 $\pm$ 0,3		(Eycleshymer, 1907)
jeřáb kanadský ( <i>Grus canadensis</i> )	$\sim$ 34 $\pm$ 2		(Gee et al., 1995)
tučňák kroužkový ( <i>Pygoscelis adeliae</i> )	$\sim$ 30–32		(Beaulieu et al., 2010)
ústřičník jihoafrický ( <i>Haematopus moquini</i> )	34,4 $\pm$ 0,7		(Boulton and Cassey, 2012)

Příloha 9: V tabulce je uveden průměrný počet manipulací s vejcem za hodinu v závislosti na druhu ve dne a v noci zjištěný v této práci a v jiných pracích s podobnou metodikou. Dále je u některých druhů uvedena velikost úhlu otočení vejce za hodinu. Uveden průměr  $\pm$  směrodatná odchylka, není-li uvedeno jinak.

druh	manipulace / hod		úhel (°)		zdroj
	den	noc	den	noc	
čejka chocholatá ( <i>Vanellus vanellus</i> )	2,00 $\pm$ 1,1	1,02 $\pm$ 1,01	60,25 $\pm$ 45,8	29,27 $\pm$ 39,0	Vlastní data
čejka černoprsá ( <i>Vanellus indicus</i> )	0,93 $\pm$ 0,5	0,73 $\pm$ 0,5	22,90 $\pm$ 17,3	16,70 $\pm$ 13,1	Vlastní data
rarož prériový ( <i>Falco mexicanus</i> )	3,4 $\pm$ 1,4	3,7 $\pm$ 1,9			(Schwartz et al., 1977)
sokol stěhovavý ( <i>Falco peregrinus</i> )	4,6 $\pm$ 1,3	4,9 $\pm$ 0,9			(Schwartz et al., 1977)
rybák Forsterův ( <i>Sterna forsteri</i> )	4,5 $\pm$ 1,1	2,8 $\pm$ 0,9			(Taylor et al., 2018)
albatros laysanský ( <i>Phoebastria immutabilis</i> ) - 1. polovina inkubace	2,9 $\pm$ 0,2 (s.e.)	1,9 $\pm$ 0,2 (s.e.)			(Clatterbuck et al., 2017)
albatros laysanský ( <i>Phoebastria immutabilis</i> ) - 2. polovina inkubace	3,0 $\pm$ 0,2 (s.e.)	2,5 $\pm$ 0,2 (s.e.)	37,2 $\pm$ 1,7 (s.e.)	34,4 $\pm$ 1,3 (s.e.)	(Clatterbuck et al., 2017)
albatros laysanský ( <i>Phoebastria immutabilis</i> )	2,1 $\pm$ 0,7	2,0 $\pm$ 0,4	~ 33,7		(Shaffer et al., 2014)
racek západní ( <i>Larus occidentalis</i> ) - 1. polovina inkubace	3,2 $\pm$ 0,3 (s.e.)	2,2 $\pm$ 0,1 (s.e.)	41,6 $\pm$ 3,8 (s.e.)	56,5 $\pm$ 2,5 (s.e.)	(Clatterbuck et al., 2017)
racek západní ( <i>Larus occidentalis</i> ) - 2. polovina inkubace	2,6 $\pm$ 0,2 (s.e.)	2,1 $\pm$ 0,2 (s.e.)	45,3 $\pm$ 3,4 (s.e.)	52,0 $\pm$ 2,4 (s.e.)	(Clatterbuck et al., 2017)
racek západní ( <i>Larus occidentalis</i> )	2,1 $\pm$ 0,4	2,0 $\pm$ 0,5	~ 43,4		(Shaffer et al., 2014)
alkoun aleutský ( <i>Ptychoramphus aleuticus</i> )	1,8 $\pm$ 0,3	2,6 $\pm$ 1,3			(Shaffer et al., 2014)
tučňák kroužkový ( <i>Pygoscelis adeliae</i> )	3,2 $\pm$ 0,4 (s.e.)				(Beaulieu et al., 2010)
kur domácí ( <i>Gallus gallus</i> )	5 za den				(Eycleshymer, 1907)